



## **DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

### **TESIS DOCTORAL**

# **TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL GUIADO POR GENOTIPO PROVIRAL: ENSAYO CLÍNICO PILOTO DE PRUEBA DE CONCEPTO ("ART-PRO")**

Doctorando

**Rosa de Miguel Buckley**

Directores de tesis

**José Ramón Arribas López**

**Federico Pulido Ortega**

A los amigos, cuyos nombres por suerte no caben en esta página.

A mi familia. Por el apoyo y cariño que siempre me han dado.

## **AGRADECIMIENTOS:**

En primer lugar, quiero mostrar mi agradecimiento a los investigadores y a los participantes del estudio. Sin ellos, este trabajo no habría sido posible.

A mis compañeros de trabajo, los de ahora y los de antes. De todos he podido aprender algo, académico o vital.

A mis directores de tesis. Por haberme regalado la oportunidad de hacer de este trabajo mi tesis doctoral, iniciarme en la investigación y guiarme en el camino.

# Tabla de contenido

<b>ABREVIATURAS .....</b>	<b>V</b>
<b>RESUMEN .....</b>	<b>VII</b>
<b>SUMMARY.....</b>	<b>IX</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN .....</b>	<b>3</b>
1.1. SIMPLIFICACIÓN DEL TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL: VISIÓN GLOBAL .....	3
1.2. DTG+3TC EN PERSONAS CON CARGA VIRAL SUPRIMIDA SIN HISTORIA DE MUTACIONES DE RESISTENCIA A DTG O 3TC .....	5
1.3. DTG+3TC EN PERSONAS CON CARGA VIRAL SUPRIMIDA CON HISTORIA PREVIA DE MUTACIONES DE RESISTENCIA A 3TC .....	10
1.4. EVIDENCIA A FAVOR DE LA REUTILIZACIÓN DE 3TC EN PERSONAS CON HISTORIA DE RESISTENCIA A 3TC .....	14
1.5. ANÁLISIS DE MUTACIONES DE RESISTENCIA ARCHIVADAS EN PERSONAS CON CARGA VIRAL SUPRIMIDA: SECUENCIACIÓN EN ADN PROVIRAL .....	23
1.6. JUSTIFICACIÓN .....	32
<b>2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</b>	<b>37</b>
2.1. HIPÓTESIS .....	37
2.2. OBJETIVOS .....	37
<b>3. PACIENTES Y MÉTODOS.....</b>	<b>41</b>
3.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES.....	41
3.2. SELECCIÓN DE PARTICIPANTES .....	41
3.3. DISEÑO GENERAL Y PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO .....	43
3.4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	53
3.5. CONSIDERACIONES ÉTICAS .....	55
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>59</b>



4.1.	CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO.....	61
4.2.	ANÁLISIS PRIMARIO DE EFICACIA .....	66
4.3.	ANÁLISIS SECUNDARIOS DE EFICACIA.....	68
4.4.	ANÁLISIS DE SEGURIDAD .....	78
<b>5.</b>	<b>DISCUSIÓN .....</b>	<b>83</b>
5.1.	LIMITACIONES .....	95
5.2.	¿QUÉ APORTA ESTE TRABAJO? .....	98
<b>6.</b>	<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>103</b>
<b>7.</b>	<b>REFERENCIAS.....</b>	<b>107</b>
<b>8.</b>	<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>123</b>
<b>9.</b>	<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>123</b>
<b>10.</b>	<b>ANEXOS .....</b>	<b>125</b>
10.1.	DOCUMENTOS DE AUTORIZACIÓN DEL ESTUDIO .....	125
10.2.	CONSENTIMIENTO INFORMADO Y HOJA DE INFORMACIÓN AL PACIENTE.....	131
10.3.	LISTADO DE COLABORADORES .....	146
10.4.	PUBLICACIONES .....	147

## NOTA:

Este trabajo ha sido presentado parcialmente en las siguientes publicaciones y congresos:

- “Long- term efficacy of dolutegravir plus lamivudine for maintenance of HIV viral suppression in adults with and without historical resistance to lamivudine: Week 96 results of ART-PRO pilot study”. Rial Crestelo D, De Miguel R, Montejano R et al. *Journal of Antimicrobial Therapy*, 2020 Nov 17:dkaa479. doi: 10.1093/jac/dkaa479. Online ahead of print.
- “Dolutegravir Plus Lamivudine for Maintenance of HIV Viral Suppression in Adults With and Without Historical Resistance to Lamivudine: 48-week Results of a Non-Randomized, Pilot Clinical Trial (ART-PRO)”. De Miguel R, Rial-Crestelo D, Dominguez-Dominguez L, Montejano R, Esteban-Cantos A, Aranguren-Rivas P, et al. *EBioMedicine*. 2020 May; 55:102779. doi: 10.1016/j.ebiom.2020.102779.
- “Long-term DTG-3TC switch efficacy in patients with archived 3TC resistance”. R de Miguel, Rial D, Dominguez-Dominguez et al. Abstract 485. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Marzo 2020. Boston (EEUU).
- “Dolutegravir and Lamivudine for Maintenance of HIV viral suppression in adults with and without historical resistance to Lamivudine:48-week results of a pilot clinical trial (TARPRO)”. D. Rial-Crestelo, R. De Miguel Buckley, L. Domínguez Domníguez, et al. Poster P-110. XI Congreso Nacional de GeSIDA. Diciembre 2019, Toledo.
- “Dolutegravir and Lamivudine for Maintenance of HIV viral suppression in adults with and without historical resistance to Lamivudine: 48-week results of a pilot clinical trial (ART-PRO)”. R. De Miguel Buckley, D.Rial Crestelo, L. Dominguez-Dominguez, et al. Presentación oral (ponente) PS7/5. 17th European AIDS Conference. Noviembre 2019, Basilea (Suiza)

# Abreviaturas

3TC- Lamivudina

ABC- Abacavir

ADN- Ácido desoxirribonucleico

APOBEC- enzima editora de la apolipoproteína B mediante ARN mensajero semejante al polipéptido catalítico (acrónimo del inglés, apolipoprotein B mRNA editing enzyme, catalytic polypeptide-like)

ARN- Ácido ribonucleico

BIC- Bictegravir

CV- Carga viral

DRV/c- Darunavir potenciado con cobicistat

DRV/r- Darunavir potenciado con ritonavir

DTG- Dolutegravir

EA- Evento adverso

EFV- Efavirenz

EVG- Elvitegravir

FDA- US Food and Drug Administration

FTC- Emtricitabina

FV – Fracaso virológico

HSH- Hombres que tienen sexo con hombres

IC- Intervalo de confianza

INI- Inhibidores de la integrasa

ITIAN- Inhibidor de la transcriptasa inversa análogo de nucleós(t)ido.

ITINN- Inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleósido

IPp- Inhibidor de la proteasa potenciado

ITT-E -Intención de tratar – expuestos

LPV / r- Lopinavir / ritonavir

NGS- Next-generation sequencing

PP- Por protocolo

PBMCs- Células mononucleares de sangre periférica (acrónimo del inglés, peripheral blood mononuclear cell)

RAL- Raltegravir

RIQ- Rango intercuartílico

RPV- Rilpivirina

RT- Retrotranscriptasa

TAF- Tenofovir disoproxil alafenamida

TAR - Tratamiento antirretroviral

TDF- Tenofovir disoproxil fumarato

VIH- Virus de la Inmunodeficiencia Humana

Vs.- Versus.

## Resumen

**Objetivo:** Investigar la eficacia del cambio de tratamiento ("*switch*") a DTG+3TC en personas con y sin historia de resistencia a 3TC, virológicamente suprimidas, sin evidencia de mutaciones de resistencia a 3TC en secuenciación poblacional de ADN proviral basal.

**Métodos:** Ensayo clínico piloto, abierto, de brazo único. Se incluyeron adultos con infección por VIH-1, naive a inhibidores de la integrasa, con CD4+>350 células/ $\mu$ L y carga viral ARN <50 copias/mL en el año previo al inicio del estudio cuyo tratamiento antirretroviral se cambió a DTG+3TC. Se excluyó a los participantes si la secuenciación poblacional de ADN proviral basal detectaba mutaciones de resistencia a 3TC. Retrospectivamente se realizó secuenciación masiva de ADN proviral (next-generation sequencing, NGS) a partir de las muestras basales para identificar variantes minoritarias de resistencia a 3TC. El endpoint primario de eficacia fue la proporción de participantes con CV<50 copias/mL de ARN VIH-1 a semana 48 (análisis por intención de tratar expuesto, algoritmo *snapshot* de la FDA). La seguridad y tolerabilidad del régimen se evaluaron mediante incidencia de eventos adversos y discontinuaciones de tratamiento. Inicialmente el seguimiento planificado de los participantes fue de 48 semanas, pero el estudio fue enmendado para prolongar el seguimiento hasta 144 semanas. ART-PRO está registrado en ClinicalTrials.gov, NCT03539224.

**Resultados:** Se incluyeron 41 participantes que cambiaron de tratamiento antirretroviral a DTG+3TC, 21 de ellos con un genotipo histórico en los que se detectaban mutaciones de resistencia a 3TC en plasma. El estudio basal por NGS detectó mutaciones de resistencia a 3TC (M184V/I y/o K65R/E/N) con un umbral > 5% en 15/21 (71,4%) y 3/20 (15%) de los participantes con y sin historia

de resistencia a 3TC, respectivamente. La proporción de participantes con carga viral < 50 copias/mL ARN-VIH a 48 semanas fue del 92,7% (38/41). Tres participantes con historia de resistencia a 3TC no completaron el estudio (2 violaciones de protocolo, 1 evento adverso). Diez participantes (4 en el grupo con historia de resistencia a 3TC) presentaron un repunte viral transitorio, todos recuperaron el control virológico con DTG+3TC. Se detectaron 28 eventos adversos relacionados con los fármacos, de los que uno dio lugar a la retirada del participante del estudio. Entre las semanas 48 y 96: 2 participantes tuvieron un repunte viral transitorio (del grupo con historia de resistencia a 3TC), 2 tuvieron eventos adversos relacionados con la medicación y un participante sin historia de resistencia a 3TC se retiró del ensayo porque rechazó continuar en la fase de extensión. Tras dos años de seguimiento no se observó ningún caso de fracaso virológico.

Interpretación: En este ensayo piloto DTG+3TC fue eficaz para el mantenimiento del control virológico a pesar de historia previa de resistencia a 3TC y presencia de mutaciones archivadas de resistencia a 3TC detectadas mediante NGS. El estudio se encuentra en fase de extensión a 144 semanas. Son necesarios más estudios que confirmen nuestros hallazgos.

Financiación: Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III PI16/00837-PI16/00678.

## Summary

**Background:** We investigated the efficacy of a switch to DTG+3TC in aviremic individuals, with and without historical 3TC resistance, but without evidence of persistent 3TC resistance-associated mutations in baseline proviral DNA population sequencing.

**Methods:** Open-label, single-arm, 48-week pilot trial. HIV-1 infected adults, naïve to integrase inhibitors, with CD4+ above 350 cell/ $\mu$ L and < 50 HIV-1 RNA copies/mL the year prior to study entry switched to DTG+3TC. Participants were excluded if baseline proviral DNA population genotyping detected 3TC resistance-associated mutations. To detect resistance minority variants, proviral DNA next-generation sequencing (NGS) was performed retrospectively from baseline samples. Primary efficacy endpoint was proportion of participants with <50 HIV-1 RNA copies per mL at week 48 (intention to treat-exposed analysis, FDA Snapshot algorithm). Safety and tolerability outcomes were incidence of adverse events and treatment discontinuations. Initially, the planned follow-up was to 48 weeks but the study was amended to prolong follow-up until week 144. ART-PRO is registered with ClinicalTrials.gov, NCT03539224.

**Findings:** 41 participants switched to DTG+3TC, 21 with 3TC resistance mutations in historical plasma genotypes. Baseline NGS detected 3TC resistance mutations (M184V/I and/or K65R/E/N) over a 5% threshold in 15/21 (71.4%) and 3/20 (15%) of participants with and without history of 3TC resistance, respectively. At week 48, 92.7% of participants (38/41) < 50 HIV-1 RNA copies per mL. Three participants with historical 3TC resistance were prematurely discontinued from the study (2 protocol violations, one adverse event). Ten participants (4 in the group with historical 3TC resistance) had a transient viral

rebound, all resuppressed on DTG+3TC. There were 28 drug-related adverse events, only one leading to discontinuation. Between weeks 48 and 96 there were 2 participants with a transient viral rebound (past 3TC-resistance group), 2 drug-related adverse events and one additional discontinuation (a participant without prior 3TC resistance who declined to continue the study extension phase). No cases of virologic failure have occurred through the current 2 years of follow-up.

Interpretation: In this pilot trial, DTG+3TC was effective in maintaining virologic control despite past historical 3TC resistance and presence of archived 3TC resistance-associated mutations detected by NGS. A 144-week study extension is currently ongoing. Further studies are needed to confirm our results.

Funding: Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III PI16/00837-PI16/00678.



# Introducción

---

# 1.Introducción

Mi tesis doctoral centra su interés en la simplificación del tratamiento antirretroviral (TAR) a la combinación de dolutegravir (DTG) y lamivudina (3TC) en personas infectadas por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) con carga viral (CV) indetectable, incluyendo un grupo de sujetos con historia de resistencia a 3TC pero en los que dichas mutaciones no se detectan al inicio del estudio mediante secuenciación poblacional (secuenciación Sanger) de ácido desoxirribonucleico (ADN) proviral.

A modo de introducción a la tesis se revisarán los estudios más relevantes sobre la combinación DTG+3TC como tratamiento de mantenimiento, la evidencia disponible sobre la reutilización de 3TC en contexto de mutaciones de resistencia y la utilidad de técnicas de secuenciación de ADN proviral en personas con carga viral suprimida.

## 1.1. Simplificación del tratamiento antirretroviral: visión global

La introducción en la práctica clínica de fármacos antirretrovirales de alta eficacia ha permitido que la infección por el VIH sea considerada como una infección crónica y el control persistente de la CV un objetivo asequible rutinariamente con los regímenes antiretrovirales recomendados en las guías de expertos<sup>1</sup>. En el momento actual a la hora de elegir un TAR los clínicos tomamos en cuenta otros factores, además de la eficacia antiviral, que faciliten la adherencia y reduzcan las toxicidades asociadas a fármacos antirretrovirales que, por el momento, el paciente deberá recibir durante toda su vida. La adherencia al tratamiento es clave para el éxito del TAR: su abandono da lugar a rebotes en la CV, aparición

de infecciones oportunistas, aumento de las muertes por cualquier causa y alteración del sistema inmune, también incluso en personas sin eventos clínicos y con linfocitos CD4+ elevados<sup>2,3</sup>. La mala adherencia al TAR puede ser la consecuencia de efectos secundarios de la medicación, ya que puede ocasionar toxicidad metabólica, gastrointestinal, ósea, renal y/o del sistema nervioso central<sup>4</sup>. Otro aspecto a considerar es el riesgo de interacciones medicamentosas que, si bien son más frecuentes en regímenes potenciados (con ritonavir o cobicistat)<sup>5</sup>, es esperable que se conviertan en un inconveniente cada vez mayor ya que el aumento en la esperanza de vida de las personas infectadas por el VIH está asociado a comorbilidades y, en consecuencia, a recibir un mayor número de medicamentos que potencialmente puedan interferir con el TAR<sup>6</sup>.

La simplificación del TAR es una estrategia terapéutica cuyo objetivo es reducir toxicidades, interacciones y aumentar adherencia. Existen medidas dirigidas a mejorar la conveniencia del tratamiento (por ejemplo, reducir el número de comprimidos, cambiar a tratamientos sin requerimientos alimentarios o de larga duración) y otras que reducen el número de fármacos que componen el régimen de TAR. Todas las opciones anteriores pueden ponerse en práctica sólo si se garantiza el control virológico.

Hasta muy recientemente se consideraba que el tratamiento estándar del VIH, tanto de inicio como mantenimiento, debía consistir en una combinación de tres fármacos incluyendo dos inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de nucleós(t)idos (ITIAN) asociados a un inhibidor de la integrasa (INI), un inhibidor de la proteasa potenciado (IPp) o a un inhibidor de la transcriptasa inversa no nucleósido (ITINN). Sin embargo en los últimos años varios estudios han demostrado que en personas con carga viral suprimida e incluso naive al TAR es posible mantener un buen control virológico con tan solo dos fármacos<sup>7</sup>.

En personas virológicamente suprimidas, las pautas de TAR simplificado que incluyen INI, y entre éstas, DTG+3TC o DTG+ rilpivirina (RPV), son las que mejor han conseguido posicionarse en las guías clínicas de referencia<sup>1,8</sup>.

## **1.2. DTG+3TC en personas con carga viral suprimida sin historia de mutaciones de resistencia a DTG o 3TC**

Eficacia de DTG+3TC como tratamiento de mantenimiento para el VIH-1: ensayos clínicos.

El estudio más relevante que ha evaluado DTG+3TC en personas con CV suprimida hasta el momento es el estudio TANGO<sup>9</sup>. En este estudio multicéntrico, abierto, aleatorizado, fase III, de no-inferioridad, se aleatorizaron 741 personas, en su mayoría varones con más de dos años en TAR sin historia de FV ni resistencias mayores a ITIAN ni INI, a continuar con una pauta estándar de tratamiento (tres fármacos más un potenciador si era el caso) basada en tenofovir disoproxil alafenamida (TAF) o a cambiar a DTG/3TC en comprimido único. En la mayoría de los casos el tercer fármaco de partida consistía en un INI, siendo elvitegravir (EVG) el más frecuente. El endpoint primario evaluó la proporción de personas con CV > 50 copias/mL a 48 semanas, analizando la población por intención de tratar expuesta (ITT-E), siguiendo el algoritmo *snapshot* de la Food and Drug Administration (FDA) y con una margen de no-inferioridad del 4%. Los resultados a 48 semanas mostraron que 0,3% (1/369) del grupo DTG/3TC frente a 0,5% (2/372) del grupo basado en TAF presentaron CV > 50 copias/mL, con una diferencia que permitió establecer la no inferioridad de la pauta dual (-0,3 [IC 95%: -1,2, 0,7]). El 93,2% de los participantes del grupo DTG/3TC y el 93% del basado en TAF presentaron una CV a semana 48 <50 copias/mL (diferencia ajustada 0,2 [IC 95%: -3,4 a 3,9]). A pesar de ser un estudio

de amplio tamaño muestral, no hubo ningún caso de fracaso virológico (FV) confirmado (CV > 200 copias/mL precedida de una CV > 50 copias/mL), ni aparición de resistencias en el grupo DTG/3TC. La eficacia fue similar en análisis por subgrupos estratificado por edad, sexo y tercer fármaco en la visita basal<sup>10</sup>. El número de repuntes virales transitorios (CV entre 50 y 200 copias/mL seguida de otra CV < 50 copias/mL) también fue similar en ambos grupos<sup>11</sup>. Un análisis retrospectivo post-hoc utilizando secuenciación masiva (next-generation sequencing o NGS, sistema GenoSure Archive®) en ADN proviral encontró que cuatro participantes del grupo DTG/3TC presentaban la mutación M184V/I en muestras basales, sin que ninguno presentase repunte virológico en el seguimiento<sup>12</sup>. A 96 semanas se corroboran los resultados del endpoint primario, manteniéndose la no-inferioridad de la terapia dual comparada con el tratamiento basado en TAF y, de nuevo, sin observarse ningún caso de FV en la rama de DTG/3TC<sup>13</sup>. Este estudio tiene una duración final de 200 semanas y está previsto que los sujetos del grupo de tratamiento basado en TAF puedan cambiar a DTG/3TC en la semana 148. Similar a TANGO está en curso el estudio aleatorizado multicéntrico SALSA (NCT 04021290), otro ensayo clínico de gran tamaño muestral que evaluará la eficacia de DTG/3TC comparada con continuar con TAR estándar durante 52 semanas.

El ensayo clínico TANGO es, hasta la fecha, el estudio de mayor calidad sobre DTG/3TC en personas virológicamente suprimidas. Existen otros estudios como el ensayo de brazo único LAMIDOL o los ensayos clínicos aleatorizados ASPIRE y DOLAM, realizados con anterioridad a TANGO y de menor tamaño muestral, que también demuestran la eficacia y seguridad del cambio a DTG+3TC. En la Tabla 1 se resumen los resultados más relevantes de estos estudios. De forma

resumida, con la combinación DTG+3TC los FV fueron excepcionales y no se seleccionaron mutaciones de resistencia <sup>14-16</sup>. Además, en LAMIDOL tanto la viremia residual como el reservorio celular de VIH se mantuvieron estables tras un año con DTG+3TC<sup>17</sup>. En el estudio comparativo ASPIRE, no se detectaron diferencias significativas en viremia residual ni eliminación viral en secreciones genitales (semen y exudado vaginal) entre el grupo DTG+3TC y el de triple terapia estándar<sup>18,19</sup>.

Nombre	Diseño	DTG+3TC (n)	Resistencia previa	Endpoint primario	Resultados	Fracaso viroológico/resistencias
LAMIDOL	Brazo único, abierto, prospectivo	104	NO	Exito terapéutico a S48 <sup>1</sup>	97% (IC 95%: 94%–100%)	1 FV/ No resistencias
ASPIRE	Piloto, aleatorizado [DTG+3TC vs. TT], abierto, no inferioridad (límite 12%)	44	NO	Fracaso tratamiento a S24 <sup>2</sup>	Diferencia 0,15% (IC 90%: –9,8 a 10,2) 3/44 (6,8%) DTG/3TC vs. 3/ 45 (6,7%) triple terapia	1 FV/ No resistencias
TANGO	Aleatorizado [DTG/3TC vs. TAR basado en TAF], abierto, no inferioridad (límite 4%)	369	NO	CV ≥50 copias/mL (algoritmo FDA- snapshot) en población ITT-E a S48	Diferencia –0,3 (IC 95%: –1,2 a 0,7). DTG/3TC 0,3% (1/369) vs. TAR basado en TAF 0,5% (2/372)	NO
DOLAM	Aleatorizado [DTG/3TC, DTG monoterapia o TT], abierto	29	NO	Eficacia (CV<50 copias/mL) y FV (> 50 copias/mL) algoritmo FDA- snapshot a S48	*Análisis a 24S: 96,5% (28/29 participantes) con CV<50 copias/mL	1 FV/ No resistencias (a S24)

Tabla 1. Ensayos clínicos DTG+ 3TC como tratamiento de mantenimiento.

1. Éxito terapéutico: Ausencia de FV o fallo de estrategia terapéutica (abandono de DTG+3TC >30 días por decisión del participante o del investigador, por evento adverso o pérdida de seguimiento)
2. Fracaso de tratamiento: FV, pérdida de seguimiento o discontinuación del tratamiento.

**Abreviaturas:** ITT-E: intención de tratar expuesta; FV: fracaso virológico (> 50 copias/mL confirmado); S: semana; TAF: tenofovir disoproxil alafenamida; TT: Triple terapia, Vs: versus.



### **1.3. DTG+3TC en personas con carga viral suprimida CON historia previa de mutaciones de resistencia a 3TC**

Nuestra revisión de la literatura no ha encontrado ningún ensayo clínico focalizado en evaluar la eficacia de DTG+3TC en pacientes con historia previa de mutaciones de resistencia a 3TC. Sí existen cohortes que han analizado este aspecto y que paso a describir.

Los estudios de cohortes tienen interés porque aportan información sobre la eficacia de DTG+3TC en situaciones que habían sido excluidas de los ensayos clínicos como, por ejemplo, los casos con antecedente de mutaciones de resistencia o FV.

En este sentido, DOLULAM<sup>20,21</sup> es un estudio que aporta datos muy reveladores ya que en esta cohorte prospectiva se analizó la eficacia de DTG+3TC en un grupo seleccionado de 27 personas de los que, combinando los genotipos disponibles (Sanger en en ácido ribonucleico (ARN) y ADN, NGS en ADN proviral), más de la mitad tenía la mutación M184V/I y por tanto evidencia de resistencia a 3TC (17/27, 63%). En este estudio, que excluyó a personas con resistencia a INI pero permitía la inclusión de personas con FV previos, 12 participantes tenían mutaciones de resistencia a 3TC en el momento basal documentadas bien por secuenciación poblacional de ADN proviral (Sanger) o mediante NGS. La mayoría de las mutaciones M184V se identificaron en genotipo histórico ARN (8/11), mientras que todas las mutaciones M184I (10/10) se detectaron en ADN proviral (Sanger o NGS). En 10 participantes se identificaron virus defectivos, es decir, con secuencias en las que se identificaba al menos un codón stop o en los que el análisis de hipermutación así lo indicaba, y éstos eran los casos que presentaban la mutación M184I. De los 27 participantes, 17/27 (63%) tenían un

nadir de CD4<200 céls/ $\mu$ L y en un tercio de los casos un zénith de CV superior a 300.000 copias/mL. La mediana de tiempo con CV suprimida previo al cambio de TAR a DTG+3TC era de 6,4 años (rango intercuartílico [RIQ] 4,6–10,1 años) y 9/27 participantes (33%) tenía historia de TAR previo con raltegravir (RAL). No se encontró asociación entre el tiempo con CV suprimida y la presencia de virus defectivos. En el seguimiento a dos años de DOLULAM, no hubo ningún caso de FV, definido como CV confirmada >50 copias/mL. En el análisis a 4 años tampoco se detectó ningún caso de FV (definido como CV> 200 copias/mL), si bien un participante fue excluido del estudio (mes 33) por presentar viremia de bajo nivel (50-200 copias/mL), sin que se desarrollasen mutaciones de resistencia<sup>22</sup>.

Existen diferentes cohortes retrospectivas que han analizado la eficacia de DTG+3TC en personas con historia de resistencias o FV.

En la cohorte italiana de Galizzi et al. se evaluó la eficacia del *switch* a DTG+3TC en 307 personas con más de 15 años de historia de TAR y una mediana de tiempo indetectable de 5,1 años (RIQ 2,2-8,4) de las cuales el 43,6% había tenido algún FV (134/307)<sup>23</sup>. En su análisis, se observó una incidencia de FV (definido como 2 CV >50 copias/mL, una determinación > 50 copias/mL acompañada de cambio de TAR o una única CV> 1000 copias/mL) de 3,34 por 100 personas-año (IC 95%: 2,08-5,37) con una mediana de seguimiento de 1,74 años (RIQ 0,90 – 2,46). De los 17 casos de FV, en 12 se disponía de algún genotipo previo o en el momento del FV: ninguno desarrolló mutaciones de resistencia a la integrasa y en dos personas se documentó la M184V en el fracaso, una con genotipo histórico previo en el que se encontraba dicha mutación y otra sin genotipo previo al *switch*, por lo que no se podía discernir si se trataba de mutación adquirida o primaria. De las personas con antecedente de resistencia a 3TC, la probabilidad de ausencia de FV a un año

fue muy similar a la de aquellos sin historia de resistencia (96,9% vs. 97,3% respectivamente,  $p=0,396$ ), sin que hubiera diferencias en la probabilidad de FV cuando analizaron el tiempo transcurrido entre el genotipo histórico con la mutación M184V y el FV. Incluyendo a personas de la misma cohorte que cambiaron a DTG+RPV, se observó que aquellos con FV tenían una menor duración del control virológico que los que no fracasaban con tratamiento dual (0,71 años (RIQ 0,23-1,07) vs. 1,49 (RIQ 0,64-2,2),  $p=0,001$ ), si bien, en este estudio no se aportan datos separados para cada pauta del impacto en la eficacia del tiempo con CV indetectable previo al *switch*.

Gagliardini et al. también analizaron si existe algún factor que pudiera justificar el éxito del tratamiento dual con 3TC en personas con historia previa de resistencia a este fármaco<sup>24</sup>. En su análisis de la cohorte ARCA de 436 personas bajo tratamiento dual con una combinación de 3TC+IPPp o 3TC+INI, había 87 (20%, de los que 21 recibían DTG+3TC) con un genotipo poblacional ARN previo en el que se detectaba la mutación M184V. En comparación con el grupo sin resistencia previa a 3TC, el grupo con la mutación M184V lo conformaban personas con una mayor duración de infección por VIH (19,2 vs. 7,8 años), con un nadir de CD4+ menor (147 vs. 224 céls/ $\mu$ L) que habían recibido más líneas de tratamiento (8 vs. 4) y llevaban más tiempo con CV indetectable (6,6 vs. 3,8 años). En el análisis principal de esta cohorte no se observó que la probabilidad de tener un FV a tres años en las personas con la mutación M184V fuese superior a la de personas sin ella. En el análisis multivariante ajustando por características basales se observó que las personas con M184V tenían mayor riesgo de repuntes virales transitorios a tres años, pero, nuevamente, no se encontró que la mutación estuviera asociada a FV o discontinuación del tratamiento. No obstante, en el análisis restringido a personas con un tiempo de indetectabilidad igual o inferior

a 3 años, la mutación M184V sí se asociaba a una menor probabilidad de estar libre de FV a 3 años en comparación a personas sin resistencia a 3TC.

La cohorte ODOACRE (Observational cohort for the study of DOlutegravir in Antiretroviral Combination Regimens) recoge desde 2014 los datos clínico-epidemiológicos de personas que inician tratamiento con DTG de varios centros italianos<sup>25</sup>. Los últimos datos publicados de *switch* a DTG+3TC constituyen la cohorte más numerosa hasta el momento<sup>26</sup>. De entre 556 personas con una mediana de infección por VIH de alrededor de 15 años en tratamiento de mantenimiento con DTG+3TC, 226 (40,6%) tenían historia de FV siendo el más frecuente el fracaso con ITIAN y en concreto a 3TC (172 personas). La mutación M184V se encontraba presente en algún genotipo histórico de 45 personas (8,1%). A 22,1 meses de seguimiento (RIQ 11,4-33,5) la incidencia de FV fue de 1,2 por 100 personas-año, y la probabilidad de mantener el control virológico a 144 semanas fue del 96,5%. En ninguno de los 12 casos de FV se desarrollaron nuevas mutaciones de resistencia. Dos de los FV ocurrieron en personas con antecedente de M184V: uno de ellos en contexto de baja adherencia a los 9.5 meses y otro consistente en un FV con viremia de bajo nivel (69 y 108 copias/mL) a los 18,6 meses del *switch*. En ambos casos se recuperó el control virológico tras cambiar el tratamiento, manteniendo DTG en la nueva combinación. Al igual que en los estudios de cohortes retrospectivos anteriormente mencionados, la mutación M184V *per se* no fue un factor predictivo de FV, aunque de nuevo, estratificando por tiempo de supresión virológica se encuentra un impacto en el control virológico. En este caso, la mutación M184V y un tiempo de supresión virológica inferior a 88 meses (7,3 años) se relacionó con una mayor tasa de FV: 6,7 por 100 personas-año de seguimiento vs. 1 por 100 personas-año de seguimiento ( $p = 0,014$ ).

#### **1.4. Evidencia a favor de la reutilización de 3TC en personas con historia de resistencia a 3TC**

La mutación más importante de resistencia a 3TC es la M184V/I, que es seleccionada principalmente por 3TC o emtricitabina (FTC) y reduce más de 100 veces la susceptibilidad a estos fármacos. La mutación K65R, raramente seleccionada por 3TC (aparece con más frecuencia asociada a tenofovir, abacavir [ABC], estavudina y didanosina), reduce la susceptibilidad a 3TC/FTC entre 5 y 10 veces, considerándose resistencia de bajo/intermedio nivel<sup>27</sup>. Las mutaciones de resistencia a 3TC son frecuentes en personas que han experimentado algún FV mientras recibían este fármaco, siendo la M184V la mutación adquirida de resistencia a ITIAN más frecuente en todos los países analizados en el informe de 2019 de la Organización Mundial de la Salud<sup>28</sup>. Su prevalencia varía mucho en función del área geográfica que se analice, pudiendo oscilar entre el 34 y 96% en países en vías de desarrollo y un 10-15% en países desarrollados como por ejemplo Reino Unido<sup>29-31</sup>. En un análisis retrospectivo de dos bases de datos francesas y una italiana, se encontró que de entre 32.440 secuencias de la retrotranscriptasa (RT) aproximadamente un tercio de personas pre-tratadas tenía una sustitución en el codón 184<sup>32</sup>.

La mutación M184V que confiere resistencia a 3TC tiene unas características especiales que paradójicamente pueden considerarse beneficiosas para el control virológico posterior. M184V disminuye la procesividad de la retrotranscriptasa inversa, retrasa su actividad y aumenta su fidelidad (disminuyendo la capacidad de mutagénesis que pueda dar lugar a variantes compensatorias), todo lo cual afecta a la capacidad replicativa ("*fitness*") del virus<sup>33-35</sup>. La mutación M184I aparece más precozmente que la M184V (las mutaciones G→A que dan lugar a la aparición de isoleucina en el codón 184 son más frecuentes que la A→G

necesaria para la aparición de valina), pero tiene una *fitness* viral menor, motivo por el que tiende a ser reemplazada rápidamente por la M184V<sup>36</sup>. La M184I se ha propuesto como un marcador para identificar virus defectivos, ya que su expresión se ha asociado a edición por la enzima editora de la apolipoproteína B mediante ARN mensajero semejante al polipéptido catalítico (APOBEC, por sus siglas en inglés) y su presencia *in vivo* en personas suprimidas se asoció mayoritariamente en ADN proviral a virus defectivos<sup>20,37</sup>.

La mutación K65R es una mutación que se selecciona mucho menos frecuentemente, pero comparte con la M184V/I la inducción de una menor capacidad replicativa y aumento de fidelidad de la RT. Esta desventaja replicativa hace que, en ausencia de tratamiento, ambas mutaciones tiendan a desaparecer en un corto plazo de tiempo (aproximadamente un mes para la K65R y tres meses para la M184V/I)<sup>38</sup>. La M184V aumenta la susceptibilidad a fármacos como zidovudina, estavudina o tenofovir, pudiendo llegar a “re-sensibilizar” el virus en presencia de otras mutaciones asociadas a timidina<sup>39,40</sup>. Además de disminuir la mutagénesis de la RT, existen datos que sugieren que la M184V también pudiera disminuir la selección de resistencias a otros fármacos, entre los que podría incluirse DTG. Un estudio *in vitro* observó que virus con la mutación M184V/I no eran capaces de seleccionar mutaciones de resistencia frente a DTG<sup>41</sup>. La mutación R263K confiere una reducción moderada en la susceptibilidad a DTG y también afecta a la capacidad replicativa del virus, lo que probablemente explique el retraso en la aparición de la mutación M184V/I en su presencia, así como la menor capacidad replicativa de virus que contienen ambas mutaciones (M184V/I + R263K) en comparación con las mutaciones por

separado<sup>42-44</sup>. Estas sinergias podrían ser beneficiosas para tratamientos que combinen DTG+3TC.

Datos obtenidos a partir de cultivos celulares sugieren que 3TC puede retener una moderada actividad antiviral aún en presencia de la mutación M184V/I. La actividad antiviral residual de 3TC podría deberse a que la presencia de la mutación M184V induzca una actividad de pirofosforólisis disminuida con la consiguiente dificultad en desplazar el 3TC-trifosfato (la forma activa celular de 3TC) ya incorporado en el ADN, permitiendo que el fármaco mantenga parte de su acción como terminador de cadena<sup>45</sup>. La mutación K65R también comporta una capacidad reducida de escindir los análogos de timidina terminadores de cadena<sup>38</sup>.

El posible efecto antiviral residual de 3TC en presencia de la mutación M184V/I fue descrito *in vivo* por Campbell y colaboradores<sup>46</sup>. En un pequeño estudio piloto en personas con múltiples resistencias a ITIAN se observó que la CV aumentaba tras suspender 3TC, aún en presencia de M184V detectable, y que este aumento de la CV en algunos casos podía verse parcialmente revertido al reintroducir de nuevo 3TC.

A principio de los años 2000 hubo interés en evaluar los potenciales beneficios de mantener la mutación M184V/I y/o la eficacia de 3TC en este contexto, teniendo en cuenta que en aquella época (y especialmente en personas extensamente tratadas) las opciones terapéuticas frente al VIH-1 eran más limitadas que en la actualidad.

El estudio piloto E-184 aleatorizó a personas con virus con la mutación M184V (n=58), más de 500 CD4 células/ $\mu$ l y CV > 1000 copias/mL que recibían tratamiento con 3TC a interrumpir tratamiento o a mantener 3TC en monoterapia. Después

de 48 semanas de seguimiento, el grupo con interrupción del tratamiento tuvo una mayor proporción de fracaso inmunológico ( $CD4 < 350$  céls/ $\mu$ l) y/o clínico (eventos B o C de la CDC) (69% [IC 95% 51–83%] vs. 41% en el grupo de monoterapia con 3TC [IC 95% 26–59%],  $p = 0,018$ ). Los participantes del grupo de monoterapia con 3TC que experimentaban FV lo hacían con menor CV que el grupo de interrupción y el virus tenía una capacidad replicativa 10 veces menor que el virus salvaje sin mutaciones, hecho que los autores relacionan con que la mutación M184V se mantuvo detectable a lo largo de todo el periodo del estudio en las personas que recibieron 3TC, sin que en este grupo se seleccionasen nuevas mutaciones de resistencia<sup>47</sup>.

En el estudio COLATE, en personas en situación de FV tras un régimen que incluyese 3TC ( $n=131$ ), se comparó la eficacia virológica de mantener tratamiento con 3TC (On-3TC) vs. suspender 3TC (Off-3TC) añadiendo además un TAR de rescate a criterio del clínico (mínimo 3 fármacos a los que el virus fuese susceptible)<sup>48</sup>. En este estudio aleatorizado 1:1 no se encontraron diferencias significativas en cuanto a reducción de CV en ambos grupos ( $-1,4$  log<sub>10</sub> copias/mL [IC 95% 1,1- 1,6] en el grupo On-3TC vs.  $-1,5$  log<sub>10</sub> copias/mL [IC 95%: 1,2-1,7],  $p = 0,51$ ), ni tampoco en la magnitud del incremento de  $CD4^+$ , por lo que los autores concluyeron que el papel de 3TC en presencia de mutaciones de resistencia no sería relevante si existe un TAR eficaz concomitante. En un subestudio de la secuencia de nucleótidos de personas que en el seguimiento tenían una  $CV > 500$  copias/mL se observó que los casos en los que persistía la mutación M184V/I tenían un número significativamente menor de sustituciones en nucleótidos, hecho que confirmaría *in vivo* el aumento de fidelidad a la RT que conlleva la mutación. En el ensayo clínico OPTIONS, de forma similar al estudio COLATE, se observó que añadir un ITIAN a un régimen optimizado de 3-4



fármacos con actividad antiviral según estudio genotípico no mejoraba el control virológico<sup>49,50</sup>. En OPTIONS (A5241) se incluyeron a 360 participantes en FV con IPp e historia previa de FV y/o exposición a ITIAN e ITINN, a los que se administró un tratamiento optimizado y además se aleatorizaron a recibir, o no, un ITIAN (también seleccionado con actividad antiviral basándose en el estudio de resistencias y la historia clínico-virológica). A 48 semanas, la probabilidad de fracaso de tratamiento (FV y/o abandono o inicio del ITIAN según el grupo) fue similar en ambos grupos, demostrándose la no-inferioridad de la estrategia sin ITIAN.

Estos estudios demuestran que intensificar un régimen optimizado frente al que el virus es susceptible con un ITIAN no parece aportar beneficios en cuanto al control virológico. El problema de estos regímenes de rescate es que con frecuencia son pautas complejas, compuestas por múltiples pastillas, habitualmente con efectos secundarios y/o toxicidades. Por su excelente perfil de tolerabilidad, y formar parte de la mayoría de las combinaciones de antirretrovirales en comprimido único, es interesante averiguar si los ITIAN -y en concreto, 3TC o FTC pueden ser incluidos en pautas de tratamiento sustituyendo a algún otro fármaco (sin incrementar el número de componentes del régimen), aún en contexto de historia de resistencias o FV previos.

Hay estudios más recientes en pacientes que han tenido FV en los que se ha observado que el tratamiento con IPp y 2-3 ITIAN puede ser igual o más eficaz que otras pautas de segunda línea a pesar de que existan mutaciones de resistencia que inicialmente vaticinen una baja susceptibilidad a los ITIAN. En los estudios aleatorizados SELECT, SECOND LINE y EARNEST se aleatorizó a

personas con FV a un régimen de 2 ITIAN + ITINN y naïve a IPp e INSTI a recibir tratamiento con un IPp en combinación con RAL o con 2-3 ITIAN “reciclados”. En EARNEST además había un brazo de monoterapia con IPp. De forma llamativa, en ninguno de los tres estudios se demostró la superioridad de la pauta que incluía RAL a pesar de que en todos ellos existía una amplia proporción de pacientes con resistencia a ITIAN y en concreto a 3TC (dependiendo del estudio, entre un 60-90% de participantes presentaban la M184V/I) que podrían haber hecho presuponer una menor eficacia virológica de los brazos que incluían ITIAN<sup>51-54</sup>.

En SELECT, SECOND LINE y EARNEST, la correlación negativa entre número de ITIAN activos y supresión virológica fue independiente de factores potencialmente confusores como la carga viral o niveles de adherencia basales<sup>55</sup>. En los tres estudios la mayoría de los participantes asignados a recibir ITIAN recibieron tenofovir disoproxil fumarato (TDF) como parte del tratamiento, lo cual podría llevar a la conclusión de que la eficacia del tratamiento en estos grupos podía estar mediada por la hipersusceptibilidad que confiere la M184V/I a este fármaco. No obstante, en el estudio EARNEST se observó que del grupo IPp + ITIAN, el 89% de las personas sin ninguna actividad según genotipo de los ITIAN tuvo una CV <400 copias/mL a 96 semanas frente al 61% de monoterapia con IPp ( $p < 0,0001$ ). Si nos ceñimos específicamente a los resultados virológicos del grupo IPp + ITIAN de este estudio, los resultados favorables a la combinación IPp + ITIAN se mantenían en el análisis de personas en FV con TAR de primera línea que incluyese TDF y es más, paradójicamente se observó que a mayor actividad de ITIAN según genotipo había una menor probabilidad de alcanzar la supresión virológica<sup>56</sup>.

La evidencia de pautas que incluyen INI en presencia de resistencia a 3TC es menor, pero ya existen datos que demuestran su eficacia en este contexto. En el estudio multicéntrico, fase 3b, abierto DAWNING, se aleatorizó a personas en FV tras 2 ITIAN + ITINN (n=624), naive a IPp e INI, a recibir como tratamiento de rescate lopinavir/ritonavir (LPV/r) o DTG. Además, los participantes recibían 2 ITIAN seleccionados a criterio del investigador- siempre y cuando al menos uno de ellos tuviese actividad antiviral según resultados genotípicos plasmáticos. La mutación M184V/I se encontraba presente en un 82% de los casos, acompañada o no de otras mutaciones de resistencia a ITIAN. A 48 semanas, en la población ITT-e, el 84% de los participantes del grupo de DTG alcanzó una supresión virológica (CV<50 copias/mL) frente al 70% del grupo que recibió el IPp (diferencia 13,8%, IC 95% 7,3-20,3, p<0,0001), confirmándose tanto la no-inferioridad como la superioridad de la pauta con INI, lo cual llevó al comité de seguridad del ensayo a recomendar que se paralizase el brazo de LPV/r. El tiempo en alcanzarse la supresión virológica también fue significativamente menor en el grupo de DTG (29 días [RIQ 29–57] frente a 111 días de LPV/r [RIQ 35–167], p<0,0001). No hubo grandes diferencias en el cambio de CD4+ ni en la eficacia de ambas pautas en personas con CV> 100.000 copias/mL. Se dieron 11 casos (4%) de retirada por FV confirmado a semana 52 en el grupo de DTG de los que en dos -ambos con genotipo basal en el que se encontraba la M184V- se seleccionaron mutaciones de resistencia a DTG. La proporción de personas con retirada por FV en el grupo de LPV/r fue mayor (30 participantes, 10%) aunque no se seleccionaron mutaciones de resistencia a IPp en ningún caso<sup>57</sup>.

En personas suprimidas con historia de resistencia a 3TC hay pocos estudios que exploren la posibilidad de reutilizar 3TC en el tratamiento de mantenimiento, y los datos en el contexto de la simplificación del TAR son aún más escasos.

En personas con resistencias previas recibiendo pautas complejas de TAR, una opción razonable si se desea simplificar sería comenzar retirando algún ITIAN. En el estudio VERITAS (n=31) se observó que retirar el ITIAN frente al que había resistencia genotípica era seguro desde el punto de vista virológico a 144 semanas<sup>58</sup>. No obstante, cuando esta estrategia se evaluó en un estudio aleatorizado (Nuke Out, n=90), no demostró ser no-inferior a continuar con los ITIAN frente a los que genotípicamente había resistencia previa<sup>59</sup>.

La particular relación 3TC-M184V/I y los datos de estudios en FV aportan datos suficientes como para plantear la reutilización de 3TC también en tratamiento de mantenimiento.

El ensayo clínico MOBIDIP tuvo como objetivo evaluar la no-inferioridad de una terapia dual con IPp+3TC frente a monoterapia con IPp en participantes virológicamente suprimidos (CV< 200 copias/mL) pero con antecedente de FV a una primera línea de TAR. Este estudio aleatorizó 1:1 a 265 personas, en su mayoría mujeres, con una mediana de tiempo en TAR de 90 meses (RIQ 72-109) y 37 meses con el TAR de segunda línea previo a entrar al estudio. El 96% de los participantes tenía documentada la mutación M184V en el primer FV. Un análisis de la RT en células mononucleares de sangre periférica (PBMC, por sus siglas en inglés) de muestras basales detectó la mutación M184V en un 27% de participantes con una frecuencia por encima del 75%, y en el 71% de participantes cuando se reducía el umbral de detección al 1%. En los participantes en los que se detectó la M184I (13%) siempre se asoció a la presencia de codón-stop. Diseñado inicialmente para un seguimiento de 96 semanas, el estudio se interrumpió a semana 48 por observarse una proporción de FV de la rama de monoterapia con IPp superior al 20%. El análisis de fracaso de tratamiento a 48 semanas (CV confirmada >500 copias/mL, interrupción del tratamiento o re-

intensificación con ITIAN) demostró la superioridad de la terapia dual frente a monoterapia con IPp: 4 casos de fracaso de tratamiento en el grupo IPp+3TC (3%; IC 95% 0,8–7,6) vs. 33 en el de monoterapia con IPp (24,8%; IC 95% 17,7–33,0), con una diferencia entre grupos de 21,8% ( IC 95% 13,9–29,7;  $p < 0,0001$ )<sup>30,60</sup>.

Existen datos preliminares acerca de la eficacia de INI en personas suprimidas con historia de resistencia a 3TC, en su mayoría procedentes de análisis retrospectivos de terapia triple basados en INI con alta barrera de resistencia (DTG y bictegravir [BIC]), en los que la mutación M184V/I no ejerció un efecto negativo en el control virológico<sup>61–64</sup>. Recientemente en el estudio aleatorizado GS-US-380–4030 de *switch* a BIC/TAF/FTC o DTG+TAF/FTC en personas previamente suprimidas con DTG+TDF/FTC o TAF/FTC se demostró que las resistencias previas a ITIAN (confirmadas o sospechadas) no tenían impacto en la eficacia virológica de estos tratamientos a 48 semanas<sup>65,66</sup>. De los participantes de los que se disponía de un estudio genotípico basal (histórico o en ADN proviral al inicio del estudio), en un 25% (118/470) se detectaron mutaciones de resistencia a ITIAN, en su mayoría la M184V/I (17%, 81/470), detectada en aproximadamente la mitad de los casos en ADN proviral basal. Aún así, el 100% de los participantes con resistencia confirmada o sospechada a ITIAN mantuvieron una CV < 50 copias/mL a semana 48 (o última visita), sin diferencias entre los grupos de tratamiento. En INI con baja barrera de resistencia, el cambio a TAF/FTC/EVG/c no conllevó ningún FV a 48 semanas en 64 personas virológicamente suprimidas con terapia triple basada en ABC/3TC o TDF/FTC con historia de resistencia a 3TC (el 43.8% con la mutación M184V/I basal por NGS en PBMC de ADN proviral, pero sin la K65R ni mutaciones de resistencia a integrasa)<sup>67</sup>. Los datos de RAL arrojan dudas de su eficacia en este contexto, en el estudio SPIRAL el *switch* a una pauta triple de

RAL+2 ITIAN tuvo una eficacia similar a continuar con IPp + 2ITIAN, pero en SWITCHMRK esta estrategia no consiguió demostrar la no-inferioridad del tratamiento con INI, teniendo ambos estudios una proporción similar de participantes con historia de FV (en torno al 35%)<sup>68,69</sup>.

En el ámbito de pautas de menos de tres fármacos, la calidad de la evidencia es menor y se basa fundamentalmente en datos de estudios retrospectivos a los que ya se ha hecho referencia en la sección 1.3. Sin embargo, no existen a fecha de hoy ensayos clínicos prospectivos que evalúen la reutilización de 3TC en terapia dual con un INI como tratamiento de mantenimiento en personas con historia de FV o resistencia a 3TC.

### **1.5. Análisis de mutaciones de resistencia archivadas en personas con carga viral suprimida: secuenciación en ADN proviral**

La secuenciación de ADN proviral permite obtener información sobre la presencia de mutaciones de resistencia en personas virológicamente suprimidas o con cargas virales bajas en las que no es posible realizar secuenciación poblacional convencional de ARN.

La correlación entre genotipo ARN histórico y de ADN proviral en personas con carga viral suprimida es imperfecta. Cuando no hay historia de FV, Allavena et al. observaron que la concordancia del genotipo en la RT en secuenciación poblacional de ADN proviral comparada con genotipos previos era bastante buena en virus viables (en torno al 80%) y que todas las mutaciones que conferían resistencia a ITIAN identificadas en ARN se detectaban en el ADN proviral. Sin embargo, en virus defectivos la concordancia entre genotipo ARN y ADN era mucho más imperfecta (42%) y se observó que la gran mayoría de las mutaciones

identificadas eran de novo<sup>70</sup>. En personas con historia de FV parece que la concordancia entre genotipos ARN-ADN es menor que en personas que nunca han experimentado un FV. Wirden et al <sup>71</sup> reportan una concordancia inferior al 50%, observando que el 44% de mutaciones de resistencia a ITIAN del genotipo histórico ARN no se detectaban en secuenciación poblacional de ADN proviral de personas suprimidas o con CV de bajo nivel (75 copias/ml de media), y que en un 9% se detectaban mutaciones *de novo*. Delaugerre et al<sup>72</sup> describen datos similares en personas con resistencia múltiple en los que la secuenciación poblacional de ADN proviral estando suprimidos no detectaba el 63% de las resistencias a ITIAN objetivadas en el conjunto de genotipos históricos ARN.

Boukli et al observaron que la secuenciación poblacional de la RT en ADN proviral en personas suprimidas o con CV<500 copias/mL “perdía” un 30% de la información que aportaba el genotipo histórico en ARN<sup>73</sup>. Los autores reflexionan sobre las posibles causas por las que la secuenciación de ADN proviral de muestras actuales no refleje algunas mutaciones de resistencia detectadas en el pasado: es posible que las mutaciones de resistencia se integren en reservorios y eventualmente pasen a convertirse en poblaciones minoritarias o incluso llegasen a desaparecer, o también que el ADN proviral detecte mezclas de las diferentes mutaciones de resistencias archivadas (fruto de la diversidad genética del ADN integrado en el reservorio) y que, por tanto, ante una mayor librería de variantes virales en el reservorio las resistencias se identifiquen en forma “diluida” en comparación con estudios genotípicos ARN realizados durante el FV en los que el plasma está enriquecido con la variante viral resistente. La duración prolongada del TAR, representativo de una duración al menos equivalente de infección por VIH, se ha asociado a mayor discordancia entre las técnicas. Por otra parte, también se ha observado que una mayor

duración del periodo de replicación de la variante resistente aumenta la probabilidad de encontrar dicha variante en el reservorio celular<sup>74</sup>. Nouchi et al describieron la naturaleza dinámica de las mutaciones archivadas: en su estudio longitudinal de ADN proviral a cinco años en personas suprimidas se observaba cómo, de forma progresiva, dejaban de detectarse las mutaciones de resistencia en secuenciación masiva al desaparecer la presión selectiva de ITIAN frente a los que se había documentado resistencia previamente<sup>75</sup>. Finalmente, el que se detecten mutaciones no conocidas previamente en ADN proviral en comparación con genotipos históricos a pesar de un buen control virológico se ha asociado, en parte, a la presencia de virus defectivos con mutaciones inducidas por APOBEC<sup>76,77</sup>. Se ha cuestionado si los virus con mutaciones inducidas por APOBEC podrían asociarse con otros virus circulantes y dar lugar a formas recombinantes con potencial infeccioso. No obstante, esta hipótesis no parece sostenerse ya que estudios *in vitro*, *in vivo* e *in silico* demuestran que la hipermutación inducida por APOBEC es muy improbable que facilite la evolución viral, y que las mutaciones derivadas no parecen relacionarse con fracaso virológico<sup>78,79</sup>.

Si la concordancia entre genotipo ARN y ADN es imperfecta, también lo es entre las diferentes técnicas de secuenciación de ADN proviral (Sanger y NGS). La NGS es una herramienta esencial hoy en día en el campo de la biología molecular. En VIH comenzó a utilizarse en 2006, donde su valor principal respecto a la secuenciación Sanger es la capacidad de detectar mutaciones de resistencia minoritarias, incluyendo aquellas con una frecuencia poblacional inferior al 20%. Además, permite secuenciar los genes de la proteasa, RT e integrasa de forma conjunta y tiene otras ventajas respecto a procesamiento, flexibilidad y



rendimiento de datos que en su conjunto hacen de esta técnica una atractiva alternativa a la secuenciación Sanger. Algunas agencias reguladoras, como la FDA han comenzado a adoptar esta técnica, si bien, su alto precio hoy en día limita su aplicación generalizada tanto en práctica clínica habitual como en la vigilancia epidemiológica. Otra limitación de la NGS es que la prueba aún no está estandarizada y no hay guías consenso, de forma que en la actualidad puede existir cierta variabilidad entre los diferentes laboratorios que dificulten la comparación de resultados<sup>80</sup>.

Las diferencias en los resultados de secuenciación Sanger y NGS se deben fundamentalmente a la distinta sensibilidad de cada técnica. Por ejemplo en el estudio GEN-PRO, en el que se comparaba la detección de mutaciones de resistencia a 3TC mediante secuenciación de ADN proviral por secuenciación Sanger y NGS en personas virológicamente suprimidas, se observó que en personas con historia de M184V/I (n=48) la secuenciación Sanger en ADN proviral detectaba su presencia en un 26,9% mientras que por NGS se detectaba en un 45,8% y 87,5% para unos umbrales de detección de >20% y >1%, respectivamente<sup>81</sup>.

El paradigma actual respecto a la resistencia al TAR es que se trata de un proceso acumulativo y por tanto debe tenerse en consideración tanto el historial de fármacos recibidos y el grado de control virológico obtenido con ellos, como los estudios genotípicos y fenotípicos de resistencia del paciente. La mayoría de los clínicos evitarán utilizar un fármaco frente al que exista resistencia probada en algún estudio de resistencia histórico. Una de las principales incógnitas respecto a las técnicas de secuenciación de ADN proviral es el efecto que las mutaciones

concretas o abundancia de mutaciones de resistencia puedan tener sobre el control virológico en personas que ya están suprimidas. En el caso de la resistencia a 3TC, un estudio reveló que en cepas mixtas wildtype/mutantes la M184V y la K65R tenían que estar presentes por encima del 50 y 80%, respectivamente, para superar el punto de corte clínico que indicaba susceptibilidad reducida a 3TC<sup>82</sup>. Cabe pensar por tanto que poblaciones minoritarias archivadas no tendrían por qué tener un impacto relevante en la eficacia de un tratamiento que incluya 3TC, menos aún si los fármacos con que se combine tienen una alta barrera de resistencia.

Un aspecto aún por determinar es si la secuenciación de ADN proviral puede predecir, o no, la eficacia de un determinado régimen de TAR. Los escenarios en los que, a día de hoy, hay más evidencia de que la detección de mutaciones de resistencia archivadas en variantes minoritarias se podrían considerar clínicamente relevantes son: resistencia a ITINN en variantes minoritarias en personas que van a iniciar un régimen en primera línea que incluya ITINN o tras exposición a dosis única de nevirapina, detección de variantes CXCR4 previo a iniciar tratamiento con un antagonista de CCR5 y posiblemente en el FV a ITINN o IP en los que las mutaciones de resistencia no se detecten en plasma tras la desaparición de la presión selectiva de los fármacos<sup>83</sup>. Aún así tampoco existe consenso absoluto: por ejemplo, en pacientes naïve, las variantes minoritarias (<20%) de resistencia a RPV no resultaron en un mayor riesgo de FV en personas que iniciaron tratamiento de primera línea con un régimen basado en RPV, a diferencia de lo que se había observado con ITINN de primera generación<sup>84,85</sup>. Por el contrario, la doble combinación de mutaciones de resistencia >5% tanto a ITIAN como ITINN en personas naïve que iniciaron un tratamiento con TDF/FTC/Efavirenz (EFV) sí tuvieron un impacto en la supresión virológica, sin

que, cuando las mutaciones de resistencia se detectaban exclusivamente para ITINN se observase un impacto negativo en el control virológico<sup>86</sup>.

Es posible por tanto que el poder predictivo de estas pruebas pudiera estar sujeta a mutaciones o fármacos concretos, y en el caso de la NGS, a la frecuencia con que se detecten las mutaciones de resistencia.

En personas virológicamente suprimidas estas técnicas se han evaluado en menor número de estudios que en los escenarios de FV y naive, pero podrían ser de especial utilidad cuando se propone realizar un cambio de tratamiento (por simplificación o toxicidad) y exista historia de FV o no se disponga de estudios de resistencia previos. Así, en un sub-estudio con un número limitado de pacientes del ensayo clínico SPIRIT, en el que personas sin historia de FV ni resistencias a los fármacos del estudio fueron aleatorizadas a continuar terapia triple basada en IP frente a un cambio a RPV/TDF/FTC, se encontró que en siete pacientes las mutaciones archivadas que potencialmente podían conferir resistencia a RPV no se tradujeron en FV a 48 semanas<sup>87</sup>. En dos estudios de *switch* a triple terapia de ITIAN incluyendo ABC realizados a principios de los 2000 en personas previamente suprimidas con 2ITIAN+IP se observó que la presencia de mutaciones de resistencia archivadas en la RT se asociaba a mayor proporción de FV<sup>88,89</sup>.

El estudio italiano ISS-PART fue un ensayo clínico en el que personas virológicamente suprimidas con tres fármacos en TAR de primera línea se aleatorizaban a recibir tratamiento intermitente vs. tratamiento continuo estándar. En un sub-análisis del grupo control (tratamiento continuo) se observó que el FV ocurría en mayor proporción cuando la secuenciación de ADN proviral basal detectaba mutaciones de resistencia: 4/10 del grupo con mutaciones (dos

personas con la M184V que recibían TAR que incluía AZT/3TC y dos con la V108I y TAR que incluía NVP) vs. 1/26 de personas en las que la secuenciación de ADN proviral detectaba virus wildtype ( $p=0,0152$ )<sup>90</sup>. Sin embargo, estudios más recientes muestran que la resistencia a ITIAN detectada en secuenciación de ADN proviral no tendrían por qué comprometer la eficacia del régimen, especialmente si en este se incluyen fármacos con alta barrera de resistencia. En el estudio abierto EMERALD, se analizó la eficacia del *switch* a TAF/FTC/Darunavir/cobicistat (DRV/c) en comparación con continuar con una terapia de IPp+TDF/FTC. En un análisis retrospectivo del ADN proviral al inicio del estudio de 140 participantes, se observó que las mutaciones de resistencia predecían una susceptibilidad del 100% a DRV, pero sólo del 51% a todos los IP, 59% a FTC y del 76% a tenofovir, si bien todos los participantes con mutaciones de resistencia archivadas mantuvieron el control virológico a semana 48 (o en última CV registrada)<sup>91</sup>. En el estudio TANGO, que compara la eficacia de DTG/3TC frente a una terapia triple basada en TAF, se analizó mediante NGS en ADN proviral las muestras basales de los participantes (CV<50 copias/mL) y se reportaron datos de resistencias presentes en >15%. De 643 participantes, 42 (7%) tenían alguna resistencia mayor a ITIAN archivada, incluyendo 7 con la M184V/I (4 de ellos del grupo DTG/3TC), sin que las resistencias detectadas repercutieran negativamente en el control virológico a 48 semanas<sup>12</sup>. En la misma línea, análisis retrospectivos de los ensayos clínicos aleatorizados de *switch* a BIC (todos comparando BIC/TAF/FTC frente a terapias triples con 2ITIAN+ IPp o DTG) tampoco encontraron que las mutaciones de resistencia a ITIAN o a INI, en el número limitado de participantes en los que se detectó, comprometiesen la eficacia de ninguno de los regímenes en estudio. Así, por ejemplo, todos los participantes del ya mencionado estudio GS-US-380-4030 (BIC/TAF/FTC vs.

DTG en combinación con TDF o TAF/FTC) con mutaciones de resistencia en ADN proviral basal, incluyendo los 57/470 (12%) participantes con la mutación M184V/I y los 20/413 (5%) con alguna resistencia a INI (en su mayoría la T97A, una sustitución polimórfica) mantuvieron la supresión virológica a semana 48<sup>61,66</sup>.

Existen pocos datos acerca de la posibilidad de incorporar a la práctica clínica la información que aportan los análisis de mutaciones de resistencia archivadas en personas virológicamente suprimidas, teniendo en cuenta que aún no existe consenso respecto al valor de la información que aportan. Un estudio francés analizó de forma retrospectiva (n=304) la actitud tomada por los clínicos en los 6 meses posteriores a un estudio de resistencias en ADN proviral en personas suprimidas (CV<20 copias/mL) o con viremia de bajo nivel (20-200 copias/mL). Se trataba de pacientes con infección VIH prolongada, una media de 5-6 líneas de TAR y en los que el 71% tenía estudio de resistencias previo con una media de resistencia a 1,6 familias de fármacos. En un 34% de los casos, el estudio de resistencias derivó en un cambio de TAR. En personas suprimidas (n=185), el cambio de TAR dirigido por los resultados del ADN proviral y genotipos históricos de ARN se tradujo en una menor proporción de pacientes que presentaban viremia (CV> 20 copias/mL) a 6 meses comparado con los que no cambiaron de tratamiento (5% vs. 19%, p=0,02). Curiosamente, en personas con viremia de bajo nivel la probabilidad de que el paciente persistiera virémico era significativamente menor si no se cambiaba el TAR que si se hacía un cambio guiado por genotipo de ADN proviral y acumulativo ARN: a los 6 meses, el control virológico se obtuvo en el 52% de los que cambiaron de TAR frente al 74% de los que no se modificó el tratamiento (p = 0,04). Los autores puntualizan que

se realizaba una CV muy próxima al estudio genotípico y si esta era indetectable era muy improbable que se cambiase el TAR, lo cual, a su juicio, explica parcialmente que en el grupo que no cambiaba TAR se observase una mayor proporción de éxito virológico. El único factor predictor de persistencia de viremia en el análisis multivariante fue una mayor duración de CV detectable<sup>92</sup>.

Por lo anteriormente explicado, está claro que aún quedan varios aspectos por definir de las técnicas de secuenciación de ADN proviral. Es necesario estandarizar estas herramientas para que tengan calidad y validez externa, establecer en qué situaciones son de utilidad (probablemente en personas con CV suprimida ya que en el resto de escenarios prevalecería la secuenciación plasmática de ARN), cuál es el valor predictivo tanto de las mutaciones detectadas como el de aquellas que dejan de detectarse a pesar de evidencia previa de su presencia en estudios plasmáticos, y qué umbrales de detección deben considerarse potencialmente dañinos para el control virológico, si es que existe un límite que pudiera considerarse universal o si éste pudiera depender de mutaciones concretas o de las pautas de tratamiento que vayan a emplearse. Es posible que estas cuestiones se resuelvan en el futuro más inmediato ya que, aún con sus limitaciones, existen países en que ya se utiliza el ADN proviral y se contempla su uso en el contexto del *switch*, y de su experiencia seguro derivarán lecciones valiosas. Existe también un grupo de trabajo internacional que agrupa expertos en la materia y busca solventar algunas limitaciones de la técnica y áreas en las que existen vacíos de conocimiento<sup>80,93</sup>.

Las guías clínicas se posicionan prudentemente respecto a la secuenciación de ADN proviral. Reconocen su potencial en personas multitratadas con viremia de bajo nivel o sin historia de resistencias disponibles, pero a su vez, alertan sobre la limitación de estas técnicas para detectar mutaciones previas y el dudoso papel

de mutaciones detectadas que podrían ser irrelevantes para el control virológico. El mensaje global es, de momento, aguardar a tener más datos antes de incorporarlas a la práctica clínica rutinaria<sup>1,8</sup>.

## **1.6. Justificación**

DTG+3TC ha demostrado ser una pauta eficaz para el mantenimiento del control virológico. La investigación de esta combinación en *switch* en personas con historia previa de FV ha sido menor, y en concreto es prácticamente nula en personas con historia de resistencia a 3TC. Los datos acerca de la actividad antiviral de 3TC en FV en presencia de mutaciones resistencia a 3TC, así como en *switch* en combinación con IPP, alientan a pensar que la reutilización de 3TC en una terapia dual no tendría necesariamente que dar lugar a una monoterapia funcional si se acompaña de un fármaco con alta barrera frente a las resistencias como DTG. Ningún estudio ha evaluado el tratamiento con DTG+3TC en personas con historia de fracaso a 3TC de forma prospectiva.

Se desconoce si la ausencia de mutaciones de resistencia a 3TC en secuenciación poblacional de ADN proviral en personas con viremia suprimida con historia de FV podría seleccionar a candidatos en los que utilizar DTG+3TC no suponga ningún riesgo para el control virológico. Es más, no se dispone de información suficiente para saber si mutaciones de resistencia a 3TC archivadas minoritarias podrían tener algún efecto deletéreo en este contexto.

Por todo lo anterior se propone analizar, mediante un ensayo clínico piloto, la eficacia de DTG+3TC para el mantenimiento del control virológico incluyendo personas con historia de resistencia a 3TC, realizando análisis poblacional de ADN proviral para seleccionar candidatos que no presenten resistencia

persistente a 3TC y también secuenciación masiva para comprobar si mutaciones de resistencia a 3TC archivadas minoritarias pueden jugar un papel relevante en el control virológico. Teniendo en cuenta que la norma actual es no usar fármacos a los que se tiene documentada resistencia previa, parece razonable testar esta estrategia en el contexto de un ensayo prueba de concepto con un número limitado de participantes, que sentaría las bases para diseñar un estudio adecuadamente potenciado para evaluar esta estrategia en un futuro.



# Hipótesis y objetivos

---

## 2.Hipótesis y Objetivos

### 2.1. Hipótesis

En personas virológicamente suprimidas infectadas por VIH-1 con historia de resistencia a 3TC, pero en las que las mutaciones de resistencia a 3TC no se detecten en ADN proviral mediante secuenciación poblacional (Sanger), el *switch* a DTG+3TC es eficaz para mantener el control virológico.

Las mutaciones de resistencia a 3TC archivadas en el reservorio celular detectadas solo mediante secuenciación masiva no tienen un impacto relevante en la eficacia de esta estrategia terapéutica.

### 2.2. Objetivos

#### Objetivo principal

Evaluar la eficacia a 48 semanas de DTG+3TC para el mantenimiento de la supresión virológica en personas con historia de tratamiento con 3TC o FTC (con o sin M184V/I o K65R/E/N en genotipos poblacionales en plasma) pero sin presencia de mutaciones M184V/I o K65R/E/N en ADN proviral por secuenciación poblacional al inicio del estudio.

#### Objetivos Secundarios

- I. Evaluar la eficacia a 96 semanas de DTG+ 3TC para el mantenimiento de la supresión virológica en personas con historia de tratamiento con 3TC o FTC (con o sin M184V/I o K65R/E/N en genotipos poblacionales en plasma) pero sin presencia de mutaciones M184V/I o K65R/E/N en ADN proviral por secuenciación poblacional al inicio del estudio.

- II. Evaluar los casos de FV (definido como dos CV consecutivas  $\geq 50$  copias/mL) y, en su caso, la incidencia y tipo de mutaciones de resistencia que aparecieran.
- III. Evaluar la frecuencia de las mutaciones M184V/I o K65R/E/N en ADN proviral mediante NGS en pacientes infectados por VIH con replicación viral suprimida en los que no se detectan dichas mutaciones mediante ADN proviral poblacional.
- IV. Análisis del impacto en la respuesta virológica de las mutaciones detectadas por NGS.
- V. Evaluar los rebotes virológicos durante el tratamiento con DTG+3TC y, en su caso, los factores asociados al mismo.
- VI. Evaluar la seguridad y tolerabilidad de DTG+3TC.

# Pacientes y métodos

---

## **3. Pacientes y métodos**

### **3.1. Características generales**

Ensayo clínico piloto de prueba de concepto, fase IIa, abierto, de brazo único. La intervención del estudio consistía en un cambio de TAR a DTG+3TC en personas con supresión virológica. El estudio incluyó, de forma planificada, a participantes de dos grupos, en función de si tenían o no antecedente de resistencia a 3TC.

El estudio fue llevado cabo en dos centros, Hospital Universitario La Paz (Madrid) y Hospital Universitario 12 de Octubre (Madrid). Inicialmente diseñado para 48 semanas de duración, se modificó la extensión del estudio hasta 144 semanas mediante enmienda no relevante al protocolo aprobada por el Comité de Ética de la Investigación con Medicamentos (CEIM) del Hospital Universitario La Paz el 4 octubre 2018. Se presentan los resultados del estudio a 48 y 96 semanas.

### **3.2. Selección de participantes**

Se ofreció participar en el ensayo clínico a personas infectadas por el VIH-1 en seguimiento en los hospitales colaboradores y que hubieran participado en el estudio GEN-PRO. GEN-PRO (nombre completo: “Determinación de frecuencias de mutaciones de genotipo proviral”) es un estudio observacional transversal en el que se analizó la frecuencia de las mutaciones M184V/I o K65R/E/N en ADN proviral por secuenciación poblacional y NGS en personas suprimidas con intención de evaluar factores asociados a la persistencia de mutaciones de resistencia y la concordancia entre las dos técnicas de secuenciación genotípica<sup>81</sup>.

GEN-PRO consistía en una única visita en la que se realizaban los procedimientos del estudio y que a su vez servía para identificar a potenciales candidatos para el estudio ART-PRO, en los participantes en que no se detectaban mutaciones de resistencia a 3TC en secuenciación Sanger de ADN proviral. Si el sujeto cumplía los criterios de selección y finalmente participaba en el estudio ART-PRO, los procedimientos realizados en la visita del estudio GEN-PRO se consideraban como visita de *screening*.

### Criterios de inclusión

Los pacientes debían cumplir todos los criterios que se detallan a continuación para participar en el estudio:

1. Persona infectada por VIH-1.
2. Edad > 18 años.
3. Capaz de entender y dar su consentimiento informado por escrito.
4. Recibiendo tratamiento antirretroviral sin cambios durante al menos 3 meses previo a su inclusión en el estudio.
5. En tratamiento en el momento del *screening* con 3TC o FTC, o historia de tratamiento previo con alguno de estos fármacos.
6. Deseo de cambio de TAR debido a intolerancia y/o interés en la simplificación
7. Carga viral indetectable (<50 copias/mL) desde al menos un año antes de entrar en el estudio.
  - a. Se permitía un rebote viral transitorio ( $\leq 500$  copias/ml) antes de los tres meses previos a la inclusión en el estudio, precedido y seguido de una determinación con CV <50 copias/mL.
8. Nivel de CD4 >350 céls/ $\mu$ L.

9. No haber recibido previamente inhibidores de la integrasa.
10. Para el grupo de participantes con historia de resistencia a 3TC: historia de fracaso virológico con pauta de TAR que incluyera 3TC o FTC y genotipo histórico CON las mutaciones M184V/I y/ o K65 R/E/N.
11. Para el grupo de participantes sin historia de resistencia a 3TC: no historia de fracaso virológico con pauta de TAR que incluyera 3TC o FTC o que en el momento del fracaso presentasen un genotipo poblacional plasmático SIN las mutaciones M184V/I o K65 R/E/N.

### Criterios de exclusión

Los pacientes no debían cumplir ninguno de los criterios que se detallan a continuación para participar en el estudio:

1. Detección en sangre periférica de las mutaciones M184V/I o K65R/E/N en ADN proviral mediante secuenciación poblacional.
2. Mujeres embarazadas, lactantes o en edad fértil que no se comprometieran a utilizar un método anticonceptivo adecuado.
3. Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B positivo.

### **3.3. Diseño general y procedimientos del estudio**

Los candidatos para participar en el ensayo ART-PRO debían cumplir los criterios de selección del estudio y especialmente que la secuenciación Sanger del ADN proviral en los 45 días previos al día 1 del estudio no detectase mutaciones de resistencia a 3TC (visita de *screening*, GEN-PRO). En la visita basal (día 1) y previa firma de consentimiento informado, se cambiaba el TAR a DTG+3TC. El seguimiento posterior se realizaba con visitas mensuales hasta la semana 12 y posteriormente con visitas cada tres meses hasta la semana 48, fecha inicial prevista para la finalización del estudio. En la fase de extensión se continuó

seguimiento con visitas cada cuatro meses, con una duración prevista final de 144 semanas (en curso en la fecha de publicación de la tesis doctoral). En semana 24 se hizo un análisis de seguridad con el objetivo de identificar precozmente si había algún dato de alarma (fracasos virológicos) que hiciera necesario suspender el estudio de forma prematura.

El resumen del diseño del estudio se encuentra en la Figura 1.

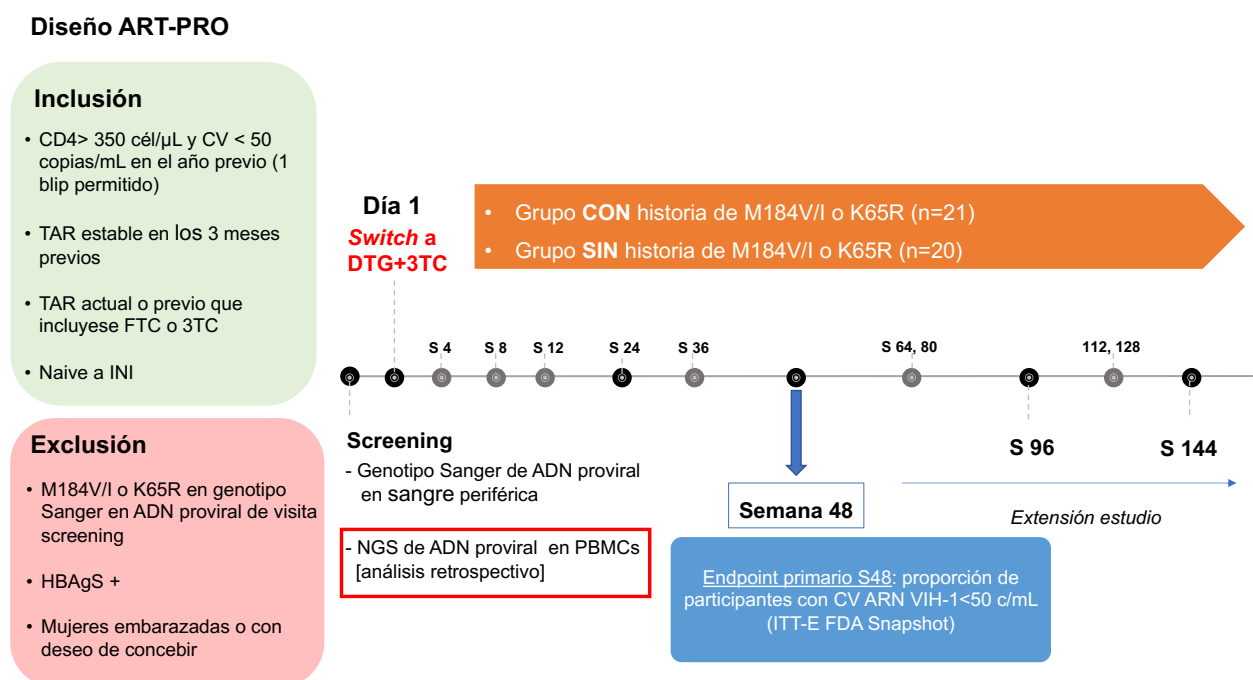


Figura 1. Diseño estudio ART-PRO

## Medicación del estudio

La intervención del estudio consistía en el cambio de TAR a una pauta simplificada con DTG+3TC:

- DTG (Tivicay®): comprimidos de 50 mg una vez al día.
- 3TC (Lamivudina): formulación genérica, comprimidos de 300 mg una vez al día.



En cada visita se dispensaba medicación (etiquetada con el código de estudio y fecha de visita correspondiente a cada semana del estudio) y se recogía la medicación sobrante. La adherencia se medía mediante conteo del número de comprimidos devueltos en cada visita.

El calendario y los procedimientos de cada visita se detallan en la Tabla 2.

Visitas	V0*	V1	V2	V3	V4	V5	V6	V7	V8	V9	V10
Semanas	Screening	Día 1	S4	S8	S12	S24	S36	S48	S64	S80	S96
Consentimiento informado	x	x						x			
Exploración física	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Constantes vitales	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Hemograma, bioquímica, coagulación	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
CV VIH-1	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
CD4+	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Secuenciación ADN proviral por Sanger	x										
Recogida de muestra para análisis ADN proviral por NGS	x										
Entrega de nueva medicación		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Recogida de medicación sobrante			x	x	x	x	x	x	x	x	x
Medicación concomitante		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Acontecimientos adversos		x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

Tabla 2. Procedimientos del estudio ART-PRO

\*Visita realizada en el estudio observacional en el que se anida el ensayo clínico ("GEN-PRO"), período máximo de 45 días entre V0 y V1.

Entre las semanas 96 y 144 se realizan, cada 16 semanas, los mismos procedimientos que en el resto de las visitas intermedias del estudio.

## Descripción de las visitas y procedimientos del estudio

### Visita de *screening*

La visita de *screening* de ART-PRO se encuentra anidada dentro de la visita del estudio GEN-PRO. Se informaba al participante acerca del estudio y si aceptaba participar, tras la firma del consentimiento informado del estudio observacional, se realizaban los procedimientos de la visita.

Como procedimientos de la visita se realizaba:

- Historia clínica completa, recogiendo los siguientes datos:
  - Datos generales: edad, sexo, raza, país de origen.
  - Infección VIH: vía de transmisión, fecha de diagnóstico de VIH+, CD4 nadir, estadio CDC, presencia de diagnóstico previo de SIDA, fecha de diagnóstico de SIDA, tiempo de TAR, tiempo con carga viral <50 copias/mL, subtipo de VIH.
  - Historia de TAR y resistencias: número, tipo, motivos para el cambio, fecha del cambio de TAR, mutaciones de resistencia detectadas en estudios poblacionales genotípicos históricos, fecha del estudio genotípico, nivel de carga viral detectada durante el estudio genotípico, tiempo desde el fracaso virológico o la interrupción del TAR y la realización del estudio genotípico.
  - Enfermedades relevantes pasadas y actuales, hábitos tóxicos, tratamiento actual.

- Exploración física: exploración general y determinación del peso, talla, índice de masa corporal y constantes vitales (tensión arterial, frecuencia cardíaca y temperatura).
- Analítica sanguínea con hemograma, coagulación, bioquímica y carga viral (ARN VIH-1), CD4+ y CD8+.
- **Secuenciación poblacional por Sanger:** mediante extracción de ADN genómico a partir de 1 mL de muestra de sangre completa. Se amplificaba el gen *pol* de ADN proviral y mediante PCR anidada se amplificaba la región interna que codifica la transcriptasa inversa. Se realizaba la secuenciación por Sanger utilizando Big Dye Terminator (Applied Biosystem) y *primers* internos que solapan para cubrir la transcriptasa inversa completa. Finalmente, se identificaba y cuantificaban las mutaciones de resistencia presentes en cada paciente utilizando el programa de interpretación de mutaciones de resistencia de Stanford (HIVdb program: Genotypic Resistance Interpretation Algorithm versión 7.0; <http://hivdb.stanford.edu/>).
- **Cuantificación retrospectiva de las mutaciones M184/V/I y K65R/E/N en el ADN proviral mediante secuenciación masiva en PBMCs:** Se extraía el ADN de VIH-1 de las PBMCs utilizando el QIAamp® DNA blood minikit (Qiagen, Hiden, Alemania) y un fragmento de 3385 pares de bases del gen *pol* se amplificaba utilizando la técnica de PCR anidada<sup>94</sup>. La secuenciación masiva se realizaba con Illumina Miseq (Illumina, San Diego, CA, USA). Las secuencias se pre-procesaban con los programas Prinseq-lite (<http://prinseq.sourceforge.net/>) y FLASH (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash>)<sup>95,96</sup>. Los resultados se analizaban en busca de resistencias con el software PaSeq

(<https://paseq.org/>). Para la interpretación de resistencias se escogió el límite del 1%. Aquellas muestras en las que se identificaban mutaciones de resistencia a 3TC en la NGS se procesaban para identificar secuencias hipermutadas con el software Hypermut 2.0 (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/hypermut/hypermut.html>). Las lecturas individuales de secuenciación de cada participante se consideraban hipermutadas si se obtenía una  $p < 0,05$  con el test exacto de Fisher que comparaba el número de cambios G→A asociados a la APOBEC con los cambios G→A de la secuencia de referencia (HXB2).

#### Visita día 1

Se revisaba que el participante cumpliera los criterios de inclusión y ninguno de los de exclusión y se obtenía el consentimiento informado del ensayo clínico. En la visita día 1 se procedía a cambiar el TAR a la medicación de estudio.

Los procedimientos de la visita incluían:

- Revisión de medicación concomitante.
- Recogida, gradación y determinación de causalidad de eventos adversos (EA).
- Examen físico incluyendo toma de constantes vitales.
- Análisis sanguínea con hemograma, coagulación, bioquímica y carga viral (ARN VIH-1), CD4+ y CD8+.
- Cambio de TAR a DTG 50 mg DTG (Tivicay®) una vez al día y Lamivudina 300 mg una vez al día.

#### Visitas de seguimiento (semanas 4 a 36)

- Revisión de medicación concomitante.

- Dispensación de nueva medicación, recogida de la anterior y conteo de comprimidos sobrantes.
- Recogida, gradación y determinación de causalidad de EAs.
- Examen físico incluyendo toma de constantes vitales.
- Analítica sanguínea con hemograma, coagulación, bioquímica y carga viral (ARN VIH-1), CD4+ y CD8+.

#### Visita final de la fase inicial del estudio (semana 48)

En esta visita se realizaban los mismos procedimientos que en las visitas de seguimiento y se ofrecía participar en la fase de extensión del estudio y, en su caso, se procedía a firmar el consentimiento informado correspondiente.

#### Fase extensión (semana 48 a 144)

En la fase de extensión se realizan los mismos procedimientos que en las visitas de seguimiento.

#### Visitas no programadas

A lo largo del estudio se podían realizar visitas no programadas si el participante presentaba algún EA que así lo requiriese, si aparecía algún rebote virológico transitorio o si el participante abandonaba el estudio de forma prematura. Todas las visitas y procedimientos no programados quedaban registrados en la historia clínica y el cuaderno de recogida de datos (CRD).

- Cada rebote virológico transitorio ( $CV \geq 50$  copias/mL) debía seguirse de un re-test de CV en las 2 semanas posteriores.
  - Si la  $CV \geq 200$  copias/mL se realizaba estudio genotípico de ARN (ViroSeq HIV-1 Genotyping System, Abbott Molecular, España).

- Visita fin de estudio: se recogía el motivo para abandonar el estudio, en caso de tratarse de algún EA se establecía si estaba o no relacionado con la medicación de estudio y se graduaba. Se extraía analítica para realización de hemograma, coagulación, bioquímica, CD4+ y CV VIH-ARN.

### Criterios de retirada y abandono

De acuerdo con la revisión actual de la Declaración de Helsinki (Fortaleza, Brasil, octubre 2013), y con la normativa aplicable, un participante podía retirarse del estudio en cualquier momento y por cualquier razón, sin que ello supusiera perjuicio en la atención médica por parte de su médico y/o centro de referencia en el futuro. Un participante podía retirarse del estudio en los siguientes casos:

- Si retiraba su consentimiento.
- Si no estaba dispuesto a cumplir con los procedimientos requeridos en el protocolo.
- Por traslado a otro centro hospitalario durante el tratamiento.
- Pérdida de seguimiento.
- Por razones de seguridad: acontecimientos adversos que por su tipo o gravedad hicieran que el participante no debiera permanecer en el estudio.

### Duración del periodo de reclutamiento

Al tratarse de un estudio prueba de concepto con un tamaño muestral limitado, se estableció que el periodo de reclutamiento fuese todo aquel que se necesitase para reclutar al número de participantes inicialmente estimado (40 sujetos).

## Variables incluidas en el estudio

- Variables epidemiológicas: edad, sexo, país de origen, raza.
- Variables de la historia clínica del paciente:
  - Patologías y tratamientos concomitantes relevantes: información sobre las patologías y tratamientos relevantes (pasados y activos) en el momento de la visita de selección.
  - Consumo de tóxicos.
- Variables relacionadas con la infección VIH:
  - Características generales de la infección: fecha de diagnóstico de VIH+, subtipo, vía más probable de transmisión, nadir de linfocitos CD4, estadio CDC, diagnóstico previo de sida, última carga viral >50 copias/mL y siguiente CV <50 copias/mL, fecha de inicio de TAR, pautas de TAR previas y tratamiento en el momento de incluirse en el estudio.
  - Estudios de resistencias previos: Mutaciones de resistencia detectadas en estudios poblacionales genotípicos históricos en plasma, fecha de su realización y cuantificación de carga viral detectada durante el estudio genotípico.
  - Evaluación de la aparición de mutaciones genotípicas de resistencia: Incidencia de mutaciones genotípicas de resistencia en los pacientes con fracaso virológico en la semana 48 y 96, descripción y frecuencia de las mutaciones genotípicas de resistencia.

- Frecuencia y porcentaje (expresado según los límites 1%, 5% y 20%) de las mutaciones M184V/I y K65R/E/N por NGS al inicio del estudio (visita de *screening*).
  - Determinación de carga viral del VIH-1, expresado en copias de ARN-VIH por mL mediante técnicas de PCR cuantitativa (todas las visitas).
  - Recuento de linfocitos T CD4+ en muestras de sangre, expresado en cél/μL (todas las visitas).
- Variables analíticas: Niveles de hemoglobina, leucocitos, linfocitos, neutrófilos, INR, GOT, GPT, GGT, bilirrubina, creatinina, Iones, colesterol total, HDL, LDL, triglicéridos y proteinuria.
  - Adherencia a la medicación de estudio: contabilidad de la medicación dispensada mediante registro estructurado de número de lote, fecha caducidad y fecha de la dispensación.
  - Incidencia de acontecimientos adversos y de discontinuación del tratamiento por toxicidad o intolerancia.

### Registro y gestión de datos

Se diseñó una base de registro electrónico, con formularios para facilitar la inclusión de datos de cada participante, a quien se asignaba un código individual para el estudio. La información recogida ha sido anónima, y el tratamiento de los datos se ha realizado acorde a la normativa vigente, ver epígrafe correspondiente a consideraciones éticas, página 55.



### 3.4. Análisis estadístico

#### Tamaño muestral

Al tratarse de un estudio piloto, de prueba de concepto, se realizó un muestreo de conveniencia. Se estimó que 20 participantes por grupo (40 en total) sería un número suficiente para poder evaluar la hipótesis y sentar las bases para el cálculo de tamaño muestral para un estudio ulterior con poder estadístico adecuado.

#### Análisis estadístico

##### Análisis principal

El análisis principal tuvo como objetivo evaluar la eficacia de la pauta de tratamiento en estudio. Se analizó la proporción de participantes con CV indetectable (<50 copias/mL) a las 48 semanas de seguimiento, según el algoritmo *snapshot* de la FDA<sup>97</sup> en la población “por intención de tratar-expuesta (ITT-e)”.

##### Análisis secundarios

Los análisis secundarios de eficacia incluyeron:

- La proporción de participantes con CV indetectable (<50 copias/mL) a las 48 semanas de seguimiento, según el algoritmo *snapshot* de la FDA en la población “por protocolo” (PP).
- Proporción de participantes con CV<50 copias/mL siguiendo el algoritmo de la FDA a semana 24 y 96 en la población ITT-e y PP.
- Proporción de participantes con fallo virológico en la semana 48 y 96 (algoritmo *snapshot* de la FDA, ITT-e y PP).
- Incidencia, tipo y número de mutaciones de resistencia a semana 48 y 96.

- Análisis de rebotes virológicos transitorios (elevaciones de CV  $\geq 50$  copias/mL no confirmadas en re-test posterior).
- Mediana de los cambios en el recuento de células CD4+ / $\mu$ L en la semana 48 y 96, con respecto a la visita basal.

Se analizaron el número de participantes y porcentaje que presentaban las mutaciones M184V/I y/o K65R/E/N detectadas mediante NGS en la visita inicial, con los límites de detección del 1%, 5% y 20%.

Para los análisis de seguridad se evaluaron la incidencia de eventos adversos y discontinuaciones del tratamiento debido a intolerancia o toxicidad.

La población ITT-e incluye a todos los sujetos que hayan recibido al menos una dosis de DTG+3TC. La población PP incluye a todos los sujetos que hayan recibido al menos una dosis de DTG+3TC y no exista una desviación sustancial de los criterios de inclusión/exclusión del protocolo.

El análisis descriptivo de las características de los sujetos del estudio se realizó por tablas de frecuencia para variables categóricas y mediana y rango intercuartílico para las variables continuas. Para el análisis de las diferencias en características sociodemográficas y clínicas entre los grupos de estudio se usó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis para las variables continuas y la  $\chi^2$  para las variables categóricas. Para el análisis de las diferencias ajustadas del cambio medio en CD4+, lípidos y peso a semanas 48 y 96 comparado con la cifra basal, se realizó una regresión lineal multivariante utilizando como covariables el grupo (con/sin historia de mutaciones) y el valor basal (análisis de covarianza). Se analizó la asociación entre variables categóricas utilizando el test de la  $\chi^2$  o el test exacto de Fisher en función de si la muestra tenía el tamaño suficiente o no.

Dado el carácter exploratorio del estudio y la exposición a un TAR con una potencia antiviral potencialmente disminuida, el estudio incluyó un análisis intermedio de seguridad cuando al menos la mitad de los pacientes alcanzaron la semana 24 de seguimiento. Para permitir que el estudio continuase se estableció que al menos el 80% de los participantes debía mantener la CV <50 copias/mL y que ningún paciente incluido en el estudio desarrollase nuevas mutaciones de resistencia, diferentes a las previamente archivadas, en caso de presentar fracaso virológico. El criterio de seguridad se aplicó de forma independiente para los participantes incluidos en los dos grupos.

El análisis estadístico se realizó utilizando el programa Stata (versión 15.0; Stata Corporation, College Station, Texas, USA).

### **3.5. Consideraciones éticas**

#### **Principios de buena práctica clínica**

El estudio se llevó a cabo de acuerdo a las recomendaciones para Estudios Clínicos y evaluación de fármacos en humanos, que figuran en la última versión de la Declaración de Helsinki (Fortaleza, Brasil Octubre 2013<sup>98</sup>), revisada en las sucesivas asambleas mundiales, y la actual Legislación Española en materia de Estudios Clínicos (RD 1090/2015, de 04 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos).

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los pacientes participantes se ajusta a lo dispuesto en el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD).

El protocolo y los documentos de consentimiento informado se evaluaron por el Comité de Ética de la investigación con Medicamentos del Hospital Universitario La Paz cuya composición es conocida y acreditada por las autoridades sanitarias de la Comunidad Autónoma de Madrid (<http://www.msssi.gob.es/profesionales/farmacia/ceic/pdf/ceicsacreditados.pdf>). El ensayo fue autorizado por la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, ver anexo 10.1.

El estudio se monitorizó por una *Contract Research Organization*, subcontratada para tal fin (UCICEC-Hospital Universitario La Paz).

### Promoción y financiación del ensayo

Los promotores del estudio fueron la Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz (IdiPAZ) y el Instituto de Investigación del Hospital 12 de Octubre (i+12).

La agencia financiadora del estudio fue el Instituto de Salud Carlos III (ISCIII) a través de los proyectos PI16/00678 y PI16/00837.

El estudio se encuentra registrado en EudraCT con código 2017-000151-10, en [clinicaltrials.gov](http://clinicaltrials.gov) con código NCT03539224, y en la Red de Investigación en SIDA con código RIS-EST-47.

### Consentimiento informado

Todos los participantes recibieron información precisa y detallada acerca del estudio y firmaron consentimiento informado para su participación en el ensayo, tanto en la fase inicial como en la fase de extensión. Ambos se encuentran disponibles en el anexo 10.2.

# Resultados

---

## 4.Resultados

El periodo de reclutamiento fue del 25 de septiembre de 2017 al 9 de abril de 2018. En el anexo 10.3 se especifican los investigadores principales e investigadores colaboradores de cada centro hospitalario donde se realizó el estudio.

Se estudió la elegibilidad de los 102 individuos que participaron en GEN-PRO y se ofreció participar a 45, de los cuales 41 fueron incluidos en ART-PRO: 21 con historia de resistencia a 3TC y 20 sin historia de resistencia a 3TC. En la Figura 2 se presenta el algoritmo de flujo de participantes en el ensayo. La población de estudio por ITT-e la conforman por tanto 41 participantes.

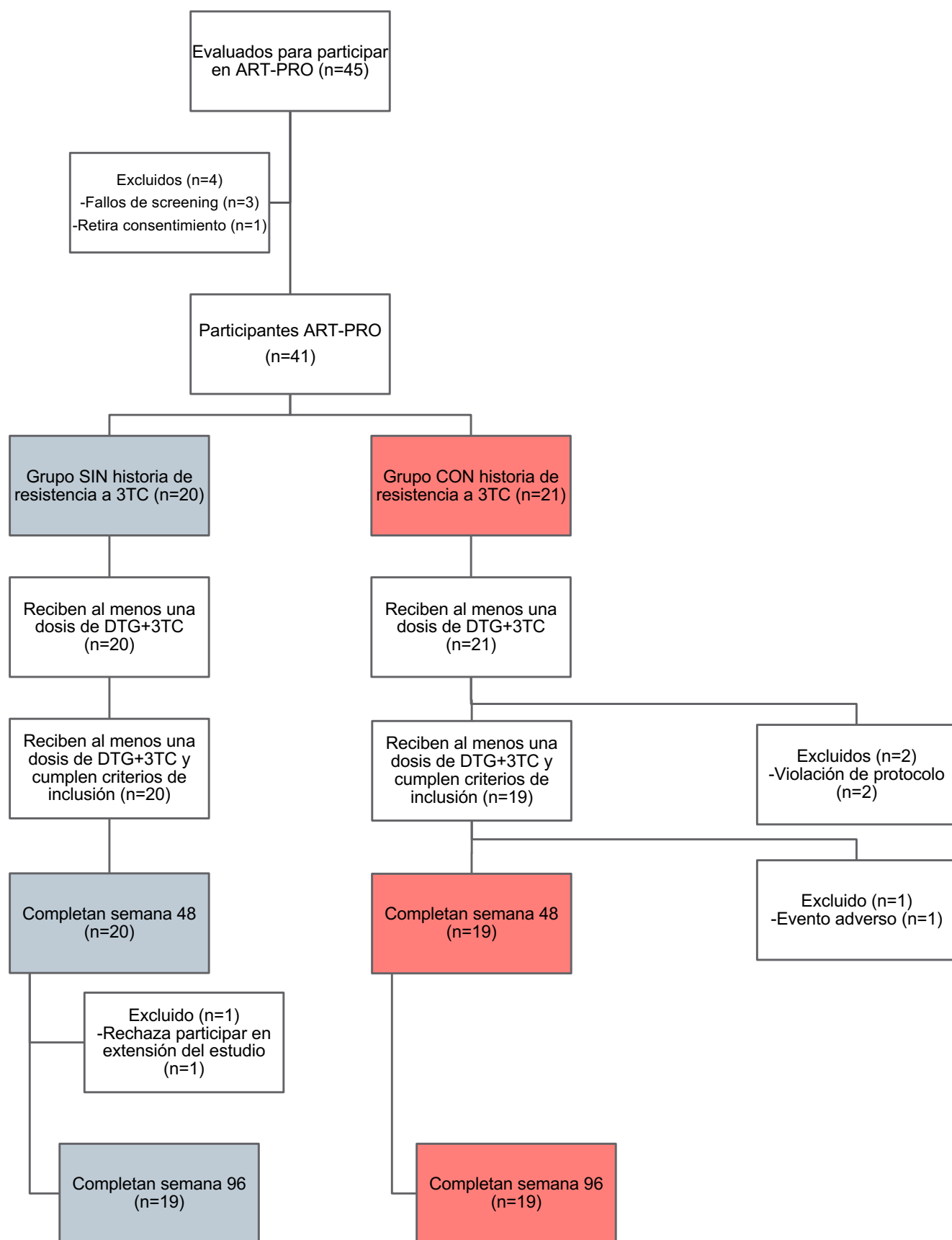


Figura 2. Diagrama de flujo de participantes ART-PRO

#### **4.1. Características de la población de estudio**

Las características basales de los 41 participantes en el estudio se encuentran detalladas en la Tabla 3. De forma global en su mayoría eran varones, en buena situación inmunológica con una mediana de 6 años con CV indetectable (RIQ 3,3-11 años) y habían recibido una mediana de 6 líneas de TAR antes de participar en el estudio (RIQ 4-10).

Los integrantes del grupo con historia de resistencia a 3TC tenían un nadir de CD4+ más bajo, una mayor duración de infección por VIH-1 y llevaban más años recibiendo TAR, sin que estas diferencias fuesen estadísticamente significativas. El grupo de participantes con historia de resistencia a 3TC tenía una duración de supresión virológica discretamente mayor (7,7 años versus 5,3) y era significativamente más improbable que estuvieran recibiendo tratamiento con 3TC o FTC en el momento de entrar al estudio, en comparación con el grupo sin historia de resistencia a 3TC.



	Todos (n=41)	Historia de resistencia a 3TC (n=21)	No historia de resistencia a 3TC (n=20)	P valor
<b>Sexo masculino, n (%)</b>	32 (78,1)	16 (76,2)	16 (80)	0,768
<b>Edad (años), mediana (RIQ)</b>	52,4 (45,4-56,9)	53,4 (47,1-57,6)	50,8 (42,9-55,3)	0,636
<b>Tiempo desde diagnóstico VIH (años), mediana (RIQ)</b>	20,6 (15-25,1)	21,5 (17,5-23,5)	16,9 (12-27,4)	0,342
<b>Mecanismo de transmisión VIH, n (%)</b>				0,383
HSH	14 (34,1)	5 (23,8)	9 (45)	
Heterosexual	9 (22)	6 (28,6)	3 (15)	
Usuarios drogas intravenosas	13 (31,7)	8 (38,1)	5 (25)	
Otros	5 (12,2)	2 (9,5)	3 (15)	
<b>CD4+ (células/mm<sup>3</sup>), mediana (RIQ)</b>				
Nadir	196 (93-290)	160 (99-216)	259 (70-314)	0,161
Basal	673 (531-842)	705 (531-871)	647 (530-800)	0,527
<b>Duración TAR (años), mediana (RIQ)</b>	18 (13,1-21,4)	18,8 (17,2-21)	13,1 (7,9-21,6)	0,085
<b>Tiempo con CV indetectable ARN-VIH (años), mediana (RIQ)</b>	6 (3,3-11)	7,7 (4-12)	5,3 (3-8,9)	0,272
<b>Número de regímenes de TAR previos al estudio, mediana (RIQ)</b>	6 (4-10)	7 (5-10)	4 (2-7)	0,427
<b>TAR basal, n (%)</b>				0,002
2 ITIAN + IPp	8 (19,5%)	7 (33,3)	1 (5)	
2 ITIAN + ITINN	9 (22)	2 (9,5)	7 (35)	
1 ITINN+ IPp	5 (12,2)	5 (23,8)	0 (0)	
1 ITIAN+ IPp	14 (34,1)	3 (14,3)	11 (55)	

Monoterapia con IPp	5 (12,2)	4 (19)	1 (5)	
<b>TAR basal con 3TC o FTC, n (%)</b>	<b>28 (68,3)</b>	<b>9 (42,9)</b>	<b>19 (95)</b>	<b>&lt;0,001</b>

*Tabla 3. Características basales de los participantes*

Abreviaturas: 3TC: lamivudina; CV: carga viral; FTC: emtricitabina; HSH: Hombres que tienen sexo con hombres; ITIAN: inhibidor transcriptasa inversa análogo de nucleós(t)ido; ITINN: inhibidor transcriptasa inversa no nucleósido; IPp: Inhibidor de la proteasa potenciado; RIQ: Rango intercuartílico, TAR: tratamiento antirretroviral.

Resultados de secuenciación basal de ADN proviral: genotipo poblacional y secuenciación masiva.

La mediana de tiempo transcurrido entre el último genotipo ARN disponible y la secuenciación de ADN proviral fue de 12,9 años.

Los resultados de la secuenciación de ADN proviral, tanto por secuenciación poblacional (Sanger) como por NGS se encuentran reflejados en la Tabla 4.

Cabe destacar que hubo dos participantes con historia de mutación M184V en los que se detectó su persistencia en secuenciación poblacional de ADN proviral al inicio del estudio pero que fueron erróneamente incluidos en el mismo, constituyendo por tanto dos violaciones de protocolo.

Respecto a la secuenciación masiva, que fue realizada de forma retrospectiva a partir de muestras basales, en prácticamente la mayoría de los participantes con historia de resistencia a 3TC se detectó persistencia de mutaciones de resistencia M184V/I con un límite de detección del 1% (20/21, 95,2%): en 11 participantes se detectó exclusivamente la M184I, en 7 exclusivamente la M184V y en 2 se

detectaron ambas mutaciones. En tres casos se detectó de forma concomitante la presencia de mutación K65R/E/N y M184V/I. Cuando se restringe el análisis a las mutaciones de resistencia detectadas con un límite del 10% y un 20%, éstas se detectaban en la mitad y un tercio de los participantes del grupo con historia de resistencia a 3TC, respectivamente.

Dentro del grupo sin historia conocida de resistencia a 3TC, se detectó exclusivamente la mutación M184I (en ningún caso la M184V) en 7 participantes con un límite de detección del 1%. Estas mutaciones de resistencia se identificaron con un límite de detección del 10% en dos participantes y en uno con un nivel superior al 20%. En ese participante en concreto, el nivel de detección de la mutación M184I fue del 99%. En un caso no pudo realizarse la amplificación para la secuenciación masiva.

Se realizó estudio de hipermutación en todos los casos en los que la NGS encontró mutación de resistencia a 3TC con un límite de detección del 1%. En 16/27 casos se detectaron genomas virales defectivos de la RT con mutaciones inducidas por APOBEC: 11/20 del grupo con historia de resistencias (55%, correspondientes a 4/7 de las M184V [57,1%] y 7/13 [53,8%] de las M184I) y 5/7 del grupo sin historia de resistencias (71,4%). Una vez suprimidas las lecturas identificadas como hipermutadas (todas M184I, 3 del grupo con historia de resistencia y 2 del grupo sin historia de resistencia), las mutaciones de resistencia a lamivudina persistieron en 22 de las 27 muestras iniciales (81,5%).

	Todos (n=41)	Historia de resistencia a 3TC (n=21)	No historia de resistencia a 3TC (n=20)	P valor
<b>Tiempo entre último genotipo ARN y secuenciación ADN proviral (años), mediana (RIQ)</b>	12,9 (11,1-14,4)	13,4 (11,1-14,6)	10,4 (4,3-13,6)	0,152
<b>M184V (Genotipo Sanger ADN proviral)*</b>	2 (4,9)	2 (9,5)	0 (0)	0,488
<b>M184V/I (NGS en ADN proviral) n (%)</b>				
>20%	8 (19,5)	7 (33)	1 (5)	0,046
>10%	13 (31,7)	11 (52,4)	2 (10)	0,007
>5%	17 (45,5)	14 (66,7)	3 (15)	0,002
>1%	27 (65,9)	20 (95,2)	7 (35)	<0,01
<b>K65R/E/N (NGS en ADN proviral) n (%) †</b>				
>20%	1 (2,4)	1 (4,8)	0 (0)	1
>10%	2 (4,9)	2 (9,5)	0 (0)	0,488
>5%	2 (4,9)	2 (9,5)	0 (0)	0,488
>1%	3 (7,3)	3 (14,3)	0 (0)	0,233

Tabla 4. Resultados de secuenciación basal de ADN proviral: genotipo poblacional y secuenciación masiva.

\* Violación de protocolo. † Un participante del grupo sin historia de resistencia a 3TC no pudo amplificarse para NGS.

Abreviaturas: 3TC: lamivudina; NGS: secuenciación masiva (next-generation sequencing).

## 4.2. Análisis primario de eficacia

En la población ITT-e, siguiendo el algoritmo *snapshot* de la FDA, el 92,7% de los participantes mantuvieron una CV ARN-VIH <50 copias/mL a 48 semanas (38/41 sujetos, IC 95% 80-98,5).

En los resultados observados en función del histórico de resistencia a 3TC, en el grupo sin historia de resistencia a 3TC la eficacia fue del 100% a las 48 semanas (20/20; IC 97,5% unilateral 83,2). En el grupo con historia de resistencia a 3TC la eficacia de DTG+3TC a semana 48 fue del 85,7% (18/21 sujetos, IC 95% 63,7-97; test exacto de Fisher  $p=0,23$ ). Este resultado viene motivado por tres retiradas del estudio que ocurrieron en este grupo, si bien ninguna fue consecuencia de causas virológicas: hubo dos retiradas por violación del protocolo y una retirada relacionada con un evento adverso.

Es importante destacar que en este estudio no hubo ningún caso de fracaso virológico a 48 semanas.

El resultado de este análisis primario de eficacia se encuentra se encuentra reflejado de forma esquemática en la y de forma gráfica en la Figura 3.

	Todos (n=41)	Historia de resistencia a 3TC (n=21)	No historia de resistencia a 3TC (n=20)
<b>ARN VIH-1 &lt;50 copias/mL</b>	38 (92,7)	18 (85,7)	20 (100)
<b>Fracaso virológico</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>ARN VIH-1 ≥50 copias/mL</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ARN VIH-1 ≥50 copias/mL en Ventana de S48	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Suspensión por falta de eficacia	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Suspensión por otra causa y última CV ARN VIH-1 ≥50 copias/mL	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>No datos virológicos a semana 48</b>	3 (7,3)	3 (14,3)	0 (0)
Suspensión por eventos adversos	1 (2,4)	1 (4,8)	0 (0)
Suspensión por otra causa y última CV ARN VIH-1 <50 copias/mL	2 (4,9)	2 (9,5)	0 (0)

Tabla 5. Eficacia virológica en población ITT-e, semana 48 (algoritmo snapshot, FDA).

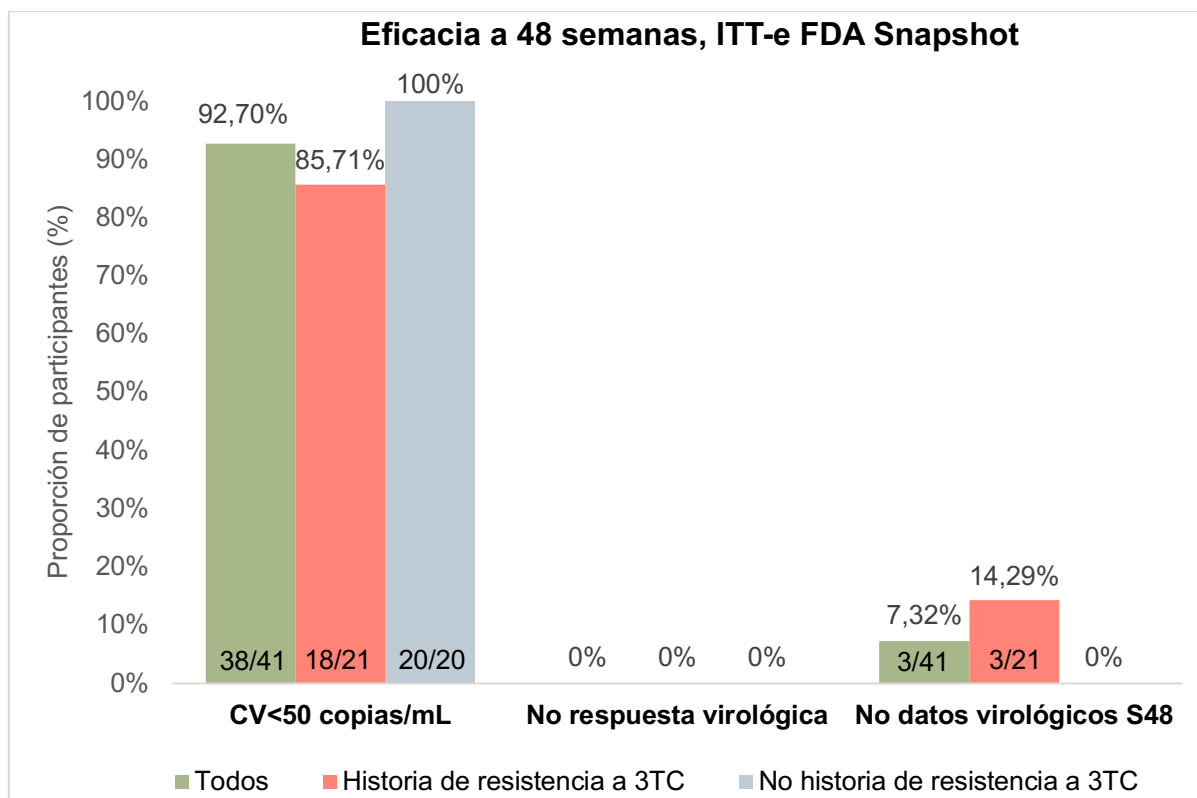


Figura 3. Eficacia virológica en población ITT-e, semana 48 (algoritmo snapshot, FDA). No respuesta virológica: CV $\geq$ 50 copias/mL. Abreviaturas: 3TC: lamivudina, CV: carga viral; S48: semana 48.

### 4.3. Análisis secundarios de eficacia

#### Análisis de eficacia a 24 semanas

Tal y como estaba definido en el protocolo, se realizó un análisis a las 24 semanas para detectar de forma precoz la existencia de algún fracaso virológico que pudiera comprometer la seguridad de los sujetos del estudio. Como ya se ha reseñado, hubo tres participantes que no alcanzaron la semana 48: dos violaciones de protocolo (semana 12) y un evento adverso (semana 8). Al darse estas discontinuaciones con anterioridad a la semana 24 y no estar relacionadas

con causas virológicas, los resultados de eficacia a 24 semanas son los mismos que para la semana 48.

#### Análisis de eficacia a 96 semanas

En la población ITT-e, siguiendo el algoritmo *snapshot* de la FDA, el 90,24 % de los participantes (37/41, IC 95% 76,9-97,3) mantuvieron una CV ARN-VIH <50 copias/mL a 96 semanas. En el grupo con historia de resistencia a 3TC la eficacia a 96 semanas fue del 85,7% (18/21; IC 95% 63,7-97) y del 95% (19/20; IC 95% 75,1-99,9) en el grupo sin historia de resistencia a 3TC (comparación entre grupos, test exacto de Fisher p: 0,61)

La diferencia en eficacia con los datos observados a semana 48 se deben a que un participante del grupo sin histórico de resistencia a 3TC declinó continuar en la fase de extensión del estudio. Todos los demás participantes alcanzaron la semana 96 con CV indetectable. Es decir, a 96 semanas tampoco hubo ningún caso de FV. En concreto, los 18 participantes con historia de resistencia a 3TC que continuaron en la extensión del estudio mantuvieron el control virológico a los dos años de seguimiento con DTG+3TC.

Los resultados de los análisis de eficacia a 96 semanas se encuentran reflejados de forma esquemática y gráfica en la Tabla 6 y Figura 4, respectivamente.



	Todos (n=41)	Historia de resistencia a 3TC (n=21)	No historia de resistencia a 3TC (n=20)
<b>ARN VIH-1 &lt;50 copias/mL</b>	37 (90,2)	18 (85,7)	19 (95)
<b>Fracaso virológico</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>ARN VIH-1 ≥50 copias/mL</b>	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ARN VIH-1 ≥50 copias/mL en Ventana de S96	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Suspensión por falta de eficacia	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Suspensión por otra causa y última CV ARN VIH-1 ≥50 copias/mL	0 (0)	0 (0)	0 (0)
<b>No datos virológicos a semana 96</b>	4 (9,8)	3 (14,3)	1 (5)
Suspensión por eventos adversos	1 (2,4)	1 (4,8)	0 (0)
Suspensión por otra causa y última CV ARN VIH-1 <50 copias/mL	3 (7,3)	2 (9,5)	1 (5)

*Tabla 6. Eficacia virológica en población ITT-e, semana 96 (algoritmo snapshot, FDA).*

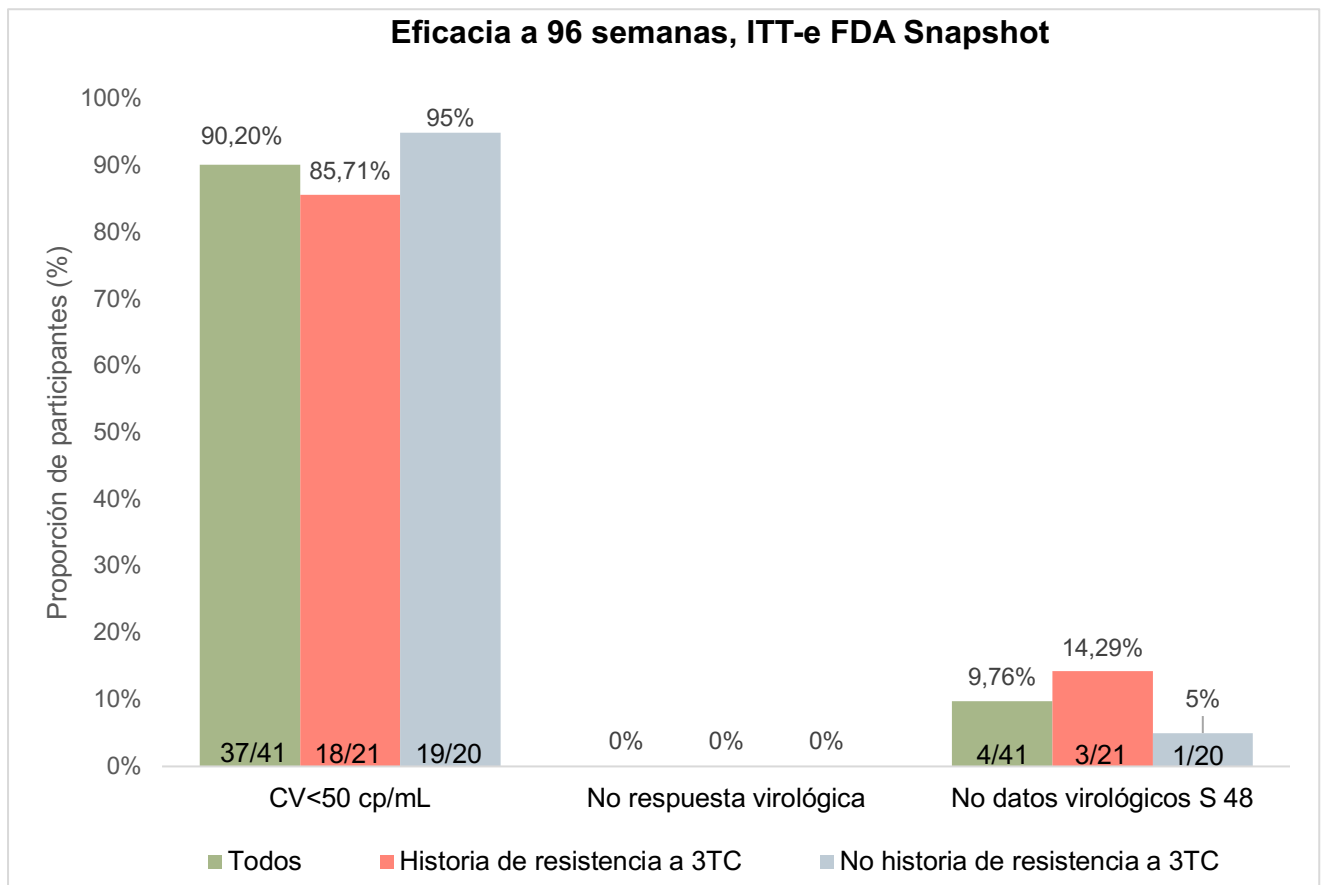


Figura 4. Eficacia virológica en población ITT-e, semana 96 (algoritmo snapshot, FDA).

No respuesta virológica:  $CV \geq 50$  cp/mL. Abreviaturas: 3TC: lamivudina, S96: semana 96.

#### Análisis de eficacia por protocolo a 48 y 96 semanas

El análisis por protocolo excluye a dos participantes en los que se produjo una violación del protocolo. En ambos casos, la desviación del protocolo consistió en la inclusión de dos sujetos con historia previa de resistencia a 3TC a los que en la visita de inicio se detectó la mutación M184V/I secuenciación poblacional de ADN proviral basal. Ambos participantes incumplían un criterio de exclusión y por ello, fueron retirados del estudio a semana 12, si bien en ese momento mantenían carga viral indetectable.

En el análisis por protocolo a semana 48 (algoritmo FDA *snapshot*) la proporción de participantes con CV<50 copias/mL fue del 97,4% (38/39 participantes, IC 95% 86,5-99,9). En el grupo con historia de resistencia a 3TC dicha eficacia fue del 94,7% (18/19 participantes, con un abandono en relación con un EA en semana 8, IC 95% 74-99,9) y del 100% en el grupo sin historia de resistencia a 3TC (20/20 participantes, IC 97,5% unilateral 83,2; comparación entre grupos, test exacto de Fisher  $p=0,49$ ).

En el análisis por protocolo a semana 96 (algoritmo FDA *snapshot*) la proporción de sujetos con CV<50 copias/mL fue del 94,9% (37/39 participantes, IC 95% 82,7-99,4). En el grupo con historia de resistencia a 3TC la eficacia no cambia respecto a semana 48 (94,7%, 18/19 participantes, con el abandono por EA a semana 8, IC 95% 74-99,9). Un participante del grupo sin historia de resistencia a 3TC declinó continuar en el estudio más allá de la semana 48, por lo que la proporción de participantes con CV<50 copias/mL para este grupo fue del 95% (19/20 sujetos, IC 95% 75,1-99,9; comparación de proporciones, test exacto de Fisher,  $p=1$ ).

### Análisis de rebotes virológicos transitorios

A lo largo del estudio no se produjo ningún caso de fracaso virológico.

Los repuntes transitorios de CV a **semana 48** están detallados en la Tabla 7. Hubo diez participantes (seis del grupo sin historia de resistencia a 3TC) que presentaron una CV ARN VIH-1  $\geq 50$  copias/mL en algún momento del estudio, para un total de doce rebotes virológicos transitorios. En todos los casos, se obtuvo un re-test en el que se confirmaba que la CV volvía a ser <50 copias/mL. En dos individuos el repunte viral ocurrió en el día 1, previo a que se hubiera realizado el cambio a DTG+3TC.

De los participantes del grupo sin historia de resistencia a 3TC con rebote viral transitorio, el análisis basal de ADN proviral reveló que la mitad (3/6) presentaban en el momento de iniciar el estudio la mutación M184I, incluyendo un participante en el que dicha mutación se identificó en un 99%. Este participante (participante “E”) presentó una CV detectable en el día 1 del estudio, es decir, previo al cambio a la terapia dual, y permaneció en el estudio con CV indetectable en todas las visitas posteriores.

De los cuatro participantes del grupo con historia de resistencia a 3TC se consiguió amplificar la muestra en el momento del repunte viral de dos casos, sin detectarse reaparición de M184V/I ni aparición de mutaciones de resistencia a la integrasa en el genotipo poblacional (ARN VIH-1). Cabe destacar que uno de los casos en que no se detectó aparición de resistencias fue el del “participante I”, en el que el repunte virológico fue de hasta 1.120 copias/mL (Figura 5) y que, al igual que los demás, recuperó el control virológico en la visita de re-test sin llegar a precisar cambiar el tratamiento.

A **semana 96** se añadieron dos repuntes virológicos transitorios, ambos en participantes del grupo con historia previa de resistencia a 3TC, para un total de 14 repuntes virológicos transitorios entre 12 participantes (seis del grupo con y seis del grupo sin historia de resistencia a 3TC). De nuevo, no hubo ningún caso de fracaso virológico y todos los participantes continuaron en el estudio con la pauta DTG+3TC.

	Basal			Seguimiento						
	Historia de resistencia a 3TC	NGS M184V/I	Tiempo suprimido previo al estudio (meses)	Visita (semana)	ARN VIH-1 (copias/mL)	Test de resistencias (Sanger RNA)	Re-test ARN VIH-1 (copias/mL)	TAR previo	Comentario	Seguimiento
<b>Participante A</b>	Si	Si (4,65% I)	122	S8	120	NR	<50	TDF/FTC+DRV/r	-	Continuó el estudio
<b>Participante B</b>	No	Si (4,43%, I)	24	S4	236	Integrasa SM. RT: L210W; T215D PR: 13V; 63P.	<50	3TC+DRV/c	Infección respiratoria concomitante	Continuó el estudio
<b>Participante C</b>	No	No	32	S4	120	NR	<50	TDF/FTC+EFV	S4 y S36 Infección respiratoria concomitante.	Continuó el estudio
				S24	73	NR	<50		W24: Dosis de	
				S36	63	NR	<50		corticoides intramuscular.	

<b>Participante D</b>	No	Si (99,79% I)	47	Día 1	108	NR	<50	3TC+DRV/r	-	Continuó el estudio
<b>Participante E</b>	No	No	72	Día 1	1.943	RT: 69TN	<50	TDF/FTC/RPV	-	Continuó el estudio
<b>Participante F</b>	Si	Si (99% V)	93	S12	64	NR	<50	ETV+DRV/r	Infección respiratoria concomitante	Retirada (violación protocolo)
<b>Participante G</b>	No	No	35	S12	112	NR	<50	3TC+DRV/c		Continuó el estudio
<b>Participante H</b>	No	Si (3,9% I)	92	S36	202	NA	<50	TDF/FTC+EFV	Baja adherencia	Continuó el estudio
<b>Participante I</b>	Si	Si (62,68% I)	151	S36	1.120	Integrasa: SM; RT K103N, M230L, L234I. PR: SM	<50	TDF+DRV/c	Vacunación antigripal reciente + baja adherencia	Continuó el estudio

<b>Participante</b> <b>J</b>	Si	Si (3,33% V)	181	S48	257	Integrasa: SM; RT: M184V/I no detectada.	<50	DRV/c	-	Continuó el estudio
---------------------------------	----	--------------	-----	-----	-----	--	-----	-------	---	------------------------

*Tabla 7. Características de los participantes con repuntes virológicos transitorios a semana 48.*

Abreviaturas: DRV/r: darunavir potenciado con ritonavir; NA: no amplifica; NR: no realizado\*; SM: sin mutaciones; PR: proteasa; RT: retrotranscriptasa. \* “No realizado” (NR) indica que se solicitó el test de resistencias pero no se realizó a criterio del laboratorio (en la mayoría de casos por tratarse de viremia de bajo nivel).

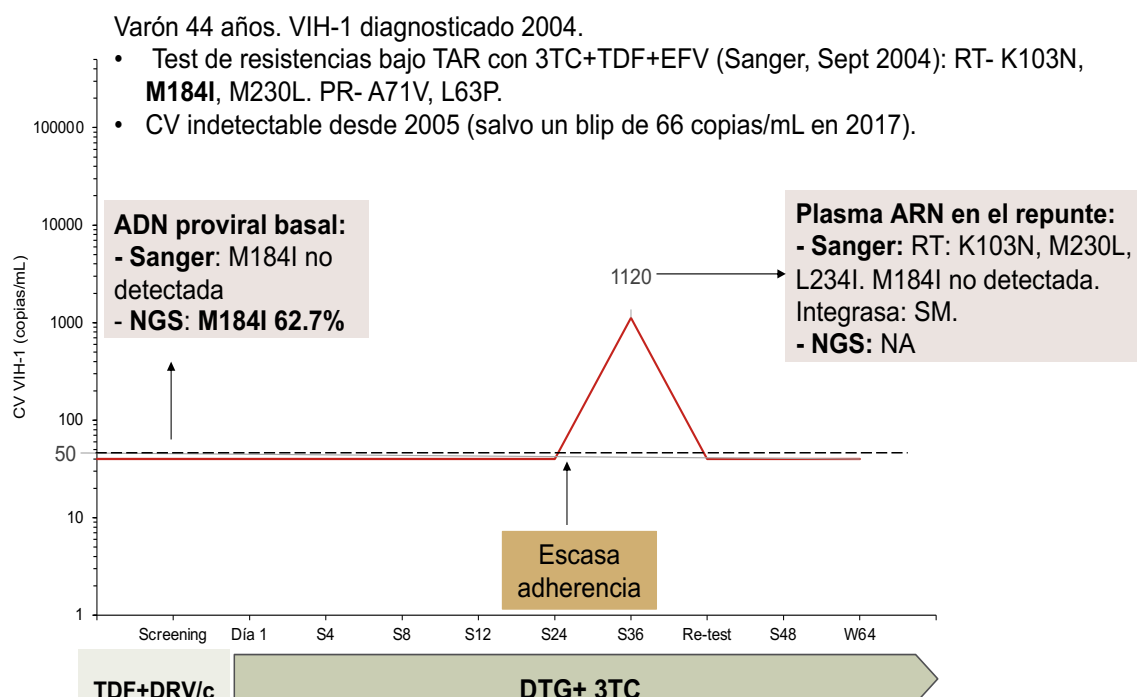


Figura 5. Rebote virológico transitorio participante "I", semana 36

Abreviaturas: 3TC: lamivudina; CV: carga viral; DRV/c: darunavir cobicistat; DTG: dolutegravir; EFV: efavirenz; NA: no amplifica; NGS: *next-generation sequencing*; PR: proteasa; RT: retrotranscriptasa; SM: sin mutaciones; TDF: tenofovir disoproxil fumarato.

### Análisis del cambio en CD4+ y CD8+

A semana 48 y 96 no hubo un cambio estadísticamente significativo en la cifra de CD4+ ni CD8+ respecto a la visita basal.

En **semana 48** la diferencia de medias de CD4+ fue de 23,84 céls/ $\mu$ l ( $p=0,686$ , IC95% -94,88-142,56) y de CD8+ de 42,2 céls/ $\mu$ l ( $p=0,471$ , IC 95% -75,41 – 159,8).

A **semana 96** la diferencia de medias de CD4+ fue de 13,12 céls/ $\mu$ l ( $p=0,862$ , IC95% -139,45-165,7) y de CD8+ de -47,04 céls/ $\mu$ l ( $p= 0,594$ , IC95% -224,85-130,77).



#### **4.4. Análisis de seguridad**

Para los análisis de seguridad se evaluaron la incidencia de eventos adversos y discontinuaciones del tratamiento debido a intolerancia o toxicidad.

A semana 48 se reportaron un total de 28 EAs relacionados con la medicación de estudio. En general, los EAs consistían en cuadros leves de flatulencia o insomnio, limitados a los primeros días o semanas tras el cambio de medicación y que se resolvían sin secuelas.

La única discontinuación debida a un EA ocurrió a semana 8 (1/41, 2,44%), en un participante con historia de resistencia a 3TC que desarrolló insomnio asociado a DTG y que abandonó el estudio, con CV indetectable.

Hubo un único evento adverso relacionado grado 3 de laboratorio (hipercolesterolemia) a lo largo del estudio.

Los EA relacionados con la medicación de estudio a semana 48 se encuentran detallados en la Tabla 8.

	Historia de resistencia a 3TC (n=21)		No historia de resistencia a 3TC (n=20)		p valor
	Participantes	EAs	Participantes	EAs	
<b>Cualquier EA</b>	10 (47,6%)	13	8 (40%)	15	0,624
<b>EA grado 3 o 4</b>	1 (4,8%)	1	0 (0%)	0	<0,001
<b>EA grado 3 o 4 de laboratorio</b>	1 (4,8%)	1	0 (0%)	0	<0,001
<b>EA grave</b>	0 (0%)	0	0 (0%)	0	
<b>Abandono por AE</b>	1 (4,8%)	1	0 (0%)	0	<0,001
<b>Muerte</b>	0 (0%)	0	0 (0%)	0	
<b>Eventos adversos ≥ 5% en cualquier grupo</b>					
Digestivo	2 (9,5%)	2	4 (20%)	5	0,342
Neuropsiquiátrico	5 (23,8%)	5	3 (15%)	3	0,477
Dermatológico	0 (0%)	0	1 (5%)	1	<0,001
Musculoesquelético	2 (9,5%)	2	1 (5%)	1	<0,001
Cabeza y cuello	0 (0%)	0	2 (10%)	2	0,1373

Tabla 8. Eventos adversos relacionados con DTG+3TC a semana 48.

Entre la semana 48 y 96 hubo dos eventos adversos relacionados más, para un total de 30, sin que hubiera nuevos eventos adversos graves ni discontinuaciones. Los eventos adversos a semana 96 relacionados con DTG+3TC se encuentran reflejados en la Tabla 9.

	Historia de resistencia a 3TC (n=21)		No historia de resistencia a 3TC (n=20)		p valor
	Participantes	EAs	Participantes	EAs	
<b>Cualquier EA</b>	10 (47,6%)	15	8 (40%)	15	0,624
<b>EA grado 3 o 4</b>	1 (4,8%)	1	0 (0%)	0	<0,001
<b>EA grado 3 o 4 de laboratorio</b>	1 (4,8%)	1	0 (0%)	0	<0,001
<b>EA grave</b>	0 (0%)	0	0 (0%)	0	
<b>Abandono por AE</b>	1 (4,8%)	1	0 (0%)	0	<0,001
<b>Muerte</b>	0 (0%)	0	0 (0%)	0	
<b>Eventos adversos ≥ 5% en cualquier grupo</b>					
Digestivo	2 (9,5%)	3	4 (20%)	5	0,342
Neuropsiquiátrico	5 (23,8%)	5	3 (15%)	3	0,477
Dermatológico	0 (0%)	0	1 (5%)	1	<0,001
Musculoesquelético	2 (9,5%)	2	1 (5%)	1	<0,001
Cabeza y cuello	0 (0%)	0	2 (10%)	2	0,1373
Respiratorio	1 (4,8%)	1	0 (0%)	0	<0,001

Tabla 9. Eventos adversos relacionados con DTG+3TC a semana 96.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas de cambio en peso, colesterol total, HDL, LDL ni triglicéridos entre la visita basal y las semanas 48 y 96.

# Discusión



## 5. Discusión

Este ensayo clínico es el primero que evalúa el tratamiento de mantenimiento con DTG+3TC incluyendo un grupo de participantes con historia de resistencia a 3TC, apoyándose en la secuenciación poblacional de ADN proviral para excluir la presencia de mutaciones de resistencia a 3TC en el momento del cambio de TAR. Tratándose de personas con carga viral indetectable previa al *switch*, era importante comprobar que en este escenario en concreto esta pauta no comprometiese el control virológico. En este estudio piloto todos los participantes que completaron las visitas a semanas 48 y 96 mantuvieron una CV < 50 copias/mL (97,4% y 94,9% respectivamente) y las 4 personas que abandonaron prematuramente el estudio también lo hicieron con CV < 50 copias/mL. Se cumple por tanto la premisa principal de este ensayo piloto, que era evaluar de forma preliminar la eficacia y seguridad de DTG+3TC en este contexto de personas multitratadas y con FV previos. Como valor añadido, se ha prorrogado la duración del estudio y a dos años perdura el control virológico sin haberse detectado ningún caso de FV ni de aparición de resistencias, a pesar de que en el momento basal se detectasen mutaciones de resistencia archivadas a 3TC minoritarias en el 65% de participantes.

DTG+3TC es una terapia dual recomendada en la actualidad por las guías europeas y americanas como tratamiento preferente frente al VIH-1 en personas naive y también como tratamiento de mantenimiento<sup>1,8</sup>. Además de su eficacia y tolerabilidad, desde la introducción de esta combinación en pastilla única en 2019 es esperable que el número de personas que reciben este tratamiento se incremente exponencialmente. Sin embargo, su uso no está indicado en personas con historia de resistencia a inhibidores de la integrasa o a 3TC<sup>9</sup>, y la evidencia

de su eficacia en personas con FV o resistencia previos no ha sido evaluada de forma prospectiva en ensayos clínicos adecuadamente potenciados. En el caso de 3TC, por su baja barrera frente a las resistencias y su utilización prácticamente universal durante más de 25 años, existe un número no desdeñable de personas que no se considerarían candidatas a recibir DTG+3TC debido al antecedente de resistencia a 3TC.

No obstante, comienzan a aparecer datos que apoyarían la hipótesis de que DTG+3TC podría mantener el control virológico incluso en personas que previamente tuvieran evidencia de resistencia a 3TC. En un estudio en ratones humanizados en los que cinco semanas después de ser infectados por VIH-1 con la mutación M184V se comenzó tratamiento con bien DTG+3TC, monoterapia con 3TC o ningún TAR, se observó que DTG+3TC fue el único tratamiento que logró controlar la viremia a partir de la tercera semana y durante el resto del estudio (40 semanas post-infección), acompañado de estabilidad o incluso aumento del cociente CD4/CD8<sup>100</sup>. En humanos la evidencia a favor de esta estrategia corresponde en su mayoría, hasta ahora, a análisis retrospectivos de cohortes. Los estudios retrospectivos de cohortes, a pesar de la heterogeneidad en cuanto a tiempo de seguimiento, inclusión y evaluación del impacto de resistencias, apuntan, de forma global, a que la presencia de la mutación M184V en genotipos históricos no es un factor determinante de FV en personas con historia de resistencia previa a 3TC que reciben DTG+3TC como tratamiento de mantenimiento<sup>23,24,26</sup>. En estas cohortes, a diferencia del estudio pivotal de DTG/3TC en personas suprimidas sin historia de resistencia en el que no hubo ningún caso de FV en la rama de DTG/3TC<sup>9</sup>, sí se detectó algún caso de FV. Probablemente por la naturaleza retrospectiva y el escaso número de casos no se pueden identificar en la actualidad las causas que hayan podido condicionar los

FV, aunque resulta tranquilizador que no se hayan descrito aparición de nuevas mutaciones de resistencia, incluido resistencia a la integrasa. El estudio DOLULAM merece una atención especial, ya que en este estudio de cohorte prospectivo se evaluó la eficacia del cambio a DTG+3TC en 27 participantes, de los que en su mayoría (17/27, 63%) existía un estudio de resistencias previo en el que encontraba la M184V/I y/o en el momento basal se detectaba su presencia en ADN proviral mediante secuenciación Sanger o NGS. En el seguimiento a cuatro años de este estudio no se ha descrito ningún caso de FV (CV> 200 copias/mL) ni de aparición de mutaciones de resistencia<sup>22</sup>.

En contraposición a la hipótesis del estudio, se podría argumentar que el tratamiento con DTG+3TC en personas con anterior resistencia a 3TC podría dar lugar a pérdida del control virológico por exponer al paciente a una monoterapia funcional con DTG, estrategia que ha demostrado un riesgo inaceptable de FV y desarrollo de resistencias a la integrasa<sup>14,101-103</sup>. A diferencia de lo que ocurre en el tratamiento de mantenimiento con la monoterapia con IPp (en la que existe riesgo de perder el control virológico pero no de que aparezcan resistencias) o la combinación de DTG+3TC (con la que es excepcional el desarrollo de mutaciones de resistencia a la integrasa en caso de FV), con DTG en monoterapia sí se han observado FV en los que se han desarrollado mutaciones de resistencia<sup>104,105</sup>. En el análisis que hacen Wijting et al de los FV del estudio aleatorizado DOMONO (ensayo de cambio a DTG en monoterapia frente a continuar con tratamiento estándar), mutaciones de resistencia que parecían conferir un descenso relativamente pequeño en la susceptibilidad a DTG (S230R, R263K, N155H y E92Q+N155H) eran suficientes para dar lugar a FV en personas que recibían monoterapia con DTG. Además, se ha descrito FV a DTG con mutaciones en una localización diferente de la integrasa, como es la región 3'-PPT (tracto de 3'-

polipurina)<sup>106</sup>: se ha propuesto que los cambios derivados de esta mutación en la parte final del ADN pueden afectar al complejo integrasa-ADN viral y por tanto, impedir la unión y el efecto inhibitorio de DTG, dando lugar a un potencial mecanismo de resistencia a INI, si bien ésta hipótesis esté aún por confirmar<sup>107,108</sup>. En un estudio de macacos infectados por el virus de la inmunodeficiencia de los simios se observó que había una variabilidad sorprendente en los mecanismos de resistencia del virus bajo tratamiento con DTG en monoterapia y no se consiguió encontrar factores pre-tratamiento que pudieran predecir qué tipo de mecanismo de resistencia iba a aparecer en un animal determinado<sup>109</sup>. Wijting et al, en su análisis del DOMONO observó que los FV aparecieron de forma tardía (posteriores a semana 24) y encontró como factores predictivos de FV un nadir de CD4+ menor, un mayor tiempo entre el diagnóstico de la infección y el inicio del TAR y una mayor cuantificación de ADN proviral en el momento del *switch*. Una mayor carga proviral podría dar lugar a reactivación estocástica de provirus con resistencia a INI, que eventualmente pudiera originar un rebote viral<sup>101,110</sup>. Otros autores también han hipotetizado que un menor reservorio podría favorecer el éxito de la monoterapia con DTG<sup>111</sup>, hecho que parece corroborarse con los datos del estudio EARLY SIMPLIFIED, el único estudio hasta la fecha en el que la monoterapia con DTG ha demostrado eficacia. Este estudio incluyó a personas que iniciaron TAR durante los primeros 180 días desde la infección y que estaban suprimidos un año antes de entrar en el ensayo, a los que se aleatorizó a continuar tratamiento o a un cambio a monoterapia con DTG. Tras 48 semanas, no hubo ningún caso de FV y se estableció la no-inferioridad de monoterapia con DTG en este contexto en concreto (margen predefinido del 10%). Los autores consideran que la clave del éxito de ensayo, en clara contraposición con los demás estudios de DTG en monoterapia, radica en el



menor tamaño del reservorio de los participantes<sup>112</sup>. En cualquier caso, se desconocen muchos aspectos de los mecanismos que puedan conducir al FV y desarrollo de resistencias con DTG en monoterapia, y parece complicado que vayan a encontrarse respuestas ya que es improbable que esta estrategia vaya a continuar evaluándose debido a la experiencia negativa de los estudios anteriores. Esta incertidumbre podría ser uno de los principales argumentos para no utilizar combinaciones que pudieran dar lugar a una monoterapia funcional con DTG.

Esta posibilidad, la monoterapia funcional con DTG, fue contemplada a la hora de plantear el diseño del estudio y es uno de los motivos por los que se optó por un tamaño muestral limitado, con un seguimiento muy estrecho, y un análisis a semana 24 que buscaba detectar precozmente si esa situación podía darse y que, además, delimitaba claramente un umbral de seguridad que hubiera determinado la finalización precoz del estudio.

En vista de los resultados de ART-PRO, no es plausible que los participantes estuvieran en situación de monoterapia funcional con DTG por varios motivos. En primer lugar, la monoterapia con DTG, en una revisión sistemática, tuvo una proporción de FV del 3,6% a 24 semanas (IC 95% 1,9-6,7) y del 8,9% (IC 95% 4,7-16,2) a 48 semanas<sup>113</sup>. Si asumimos un riesgo de FV a 48 semanas similar al porcentaje descrito para la monoterapia con DTG hubiéramos podido esperar que ocurriesen en torno a 3 FV, y sin embargo no hubo ningún caso. Si a los datos de ART-PRO se añaden también los de los otros dos estudios prospectivos hasta la fecha en los que se ha cambiado TAR a DTG+3TC en pacientes con historia de resistencia a 3TC o mutaciones archivadas en ADN proviral<sup>12,13,20</sup>, existen en total 49 personas que no han fracasado con esta pauta en un tiempo de seguimiento mínimo de 96 semanas. Es importante destacar el seguimiento a largo plazo sin

FV ya que parece que éste puede ocurrir de forma tardía en monoterapia con DTG. Otro punto importante es que en el único estudio en el que la monoterapia con DTG tuvo resultados positivos (EARLY-SIMPLIFIED) los participantes se encontraban muy cercanos a su fecha de primoinfección, una situación diametralmente opuesta a la de nuestro estudio, en el que la mediana de tiempo de infección por VIH-1 es de 20 años<sup>112</sup>.

Por último, probablemente el argumento más robusto para considerar que en ART-PRO no existe monoterapia funcional con DTG a pesar de resistencia previa a 3TC es la evidencia acumulada, *in vivo* e *in vitro*, de que 3TC puede mantener cierta actividad antiviral. Bien sea por actividad directa o por una *fitness* viral disminuida en el contexto de la mutación M184V, se ha observado que 3TC consigue reducciones de CV en presencia de dichas mutaciones<sup>33,45-47</sup>. La evidencia de mayor calidad hasta la fecha proviene de estudios prospectivos de FV y uno en *switch* (MOBIDIP) en los que el régimen incluía un IPp<sup>30,114</sup>. Como ya se ha comentado, respecto a la combinación DTG+3TC existen datos de cohortes retrospectivas y una prospectiva (DOLULAM) de que podría ser eficaz para el control virológico a pesar del histórico de resistencias a 3TC<sup>20,23,24</sup>. En comparación con IPp+3TC, la ventaja de DTG+3TC es que existe en comprimido único, presenta menos interacciones con otros medicamentos, menos requerimientos alimentarios y posiblemente tenga menos toxicidad a largo plazo<sup>8</sup>. No hay ensayos prospectivos que comparen directamente DTG+3TC con IPp+3TC, pero en la cohorte retrospectiva de Borghetti et al. en la que se analizó de forma retrospectiva la eficacia y durabilidad de la biterapia con IPp+3TC (atazanavir/ritonavir o DRV/r) o DTG a 96 semanas como tratamiento de mantenimiento (n=484, 183 con DTG+3TC), el grupo de DTG+3TC presentó una menor proporción de discontinuaciones en base a una mejor tolerancia al

tratamiento, sin diferencias en eficacia. En este estudio se incluyó un pequeño grupo de personas con historia de resistencia a 3TC (16 del grupo DTG+3TC, 39 del IPp+3TC), sin que la existencia previa de la mutación M184V fuese factor predictivo de FV<sup>115</sup>.

La combinación DTG+3TC además podría tener como factor añadido que fortalezca su barrera de resistencia de manera sinérgica, ya que un estudio *in vitro* mostró que virus con la mutación M184V/I no eran capaces de adquirir mutaciones de resistencia frente a DTG<sup>41</sup>, y que en presencia de la mutación R263K la aparición de mutaciones de resistencia a 3TC se retrasaba<sup>44</sup>. Un análisis retrospectivo de la UK HIV Drug Resistance Database sobre la evolución clínica de más de 2000 personas con la mutación M184V/I detectó que, además de la carga viral basal, el factor predictivo más importante para predecir el control virológico era la susceptibilidad completa a al menos uno de los fármacos del nuevo régimen<sup>31</sup>. Esto señala un aspecto clave del éxito de reutilizar 3TC en contexto de resistencias previas, y es que, con independencia de las dinámicas propias de 3TC y la mutación M184V que pudieran asistir en el control virológico, es imprescindible añadir a la combinación de TAR un fármaco con alta barrera a la resistencia (como un IPp o DTG).

El ensayo clínico ART-PRO utiliza una estrategia novedosa al incorporar la secuenciación del ADN proviral como herramienta para seleccionar a los participantes. Por un lado, la secuenciación poblacional de ADN proviral probablemente distinga aquellos candidatos en los que las mutaciones archivadas de resistencia a 3TC no estén presentes en una proporción tan significativa como para perturbar el control virológico. Es importante destacar que la mayoría de los sujetos del grupo con historia de resistencia a 3TC no recibían este fármaco previo al cambio de TAR y que ninguno ha presentado FV

después de reintroducir 3TC al régimen de tratamiento en dos años de seguimiento.

Por otra parte, la secuenciación masiva permite identificar variantes minoritarias archivadas y, a tenor de los resultados, con escaso impacto cuando se procede al *switch* a DTG+3TC. En el ensayo ART-PRO la mutación M184I fue la que se encontró con mayor frecuencia en la secuenciación masiva de ADN proviral de PBMCs de muestras basales (umbral >1%): estaba presente en todos los participantes sin historia de resistencia a 3TC en los que se detectaban mutaciones archivadas a 3TC (7/7, 100%) y en la mayoría de las personas con historia de resistencia a 3TC en las que se detectaba la persistencia de mutaciones de resistencia al fármaco (13/20, 65%). La mutación M184I se relaciona con edición por APOBEC y de forma convencional se considera que los virus con genoma hipermutado son defectivos, y, por tanto, resultado de un mecanismo muy eficaz de restricción del virus. No obstante algunos autores expresan cautela a la hora de minusvalorar los virus hipermutados ya que se ha observado que existe variabilidad en la actividad tanto de APOBEC como de su mecanismo compensador viral, la proteína Vif, y que una actividad subóptima podría dar lugar a virus mutados pero con cierta ventaja replicativa bajo presión selectiva o a que éstos se recombinen con otros virus no hipermutados, aumentando la diversidad viral y con potencial para producir resistencia a 3TC <sup>37,116,117</sup>. Otros autores sin embargo han demostrado que la actividad APOBEC parece regirse por un fenómeno “todo o nada”, de forma que incluso la actividad sub-letal de APOBEC es capaz de producir mutaciones G-> A a niveles inactivantes con muy escasa probabilidad de producir mutaciones beneficiosas para la replicación viral por su alta eficiencia en producir *codones stop*<sup>79</sup>.

En ART-PRO se realizó estudio de hipermutación en todos los casos en los que la NGS encontró mutación de resistencia a 3TC con un límite de detección del 1%. En aproximadamente dos tercios de los casos (16/27) se detectaron virus hipermutados inducidos por APOBEC: en torno a la mitad de las mutaciones detectadas en el grupo con historia de resistencia (11/20, 55%) y la mayoría de las del grupo sin historia de resistencias (5/7, 71,4%). Una vez suprimidas las lecturas identificadas como hipermutadas (todas ellas M184I, 3 del grupo con historia de resistencia y 2 del grupo sin historia de resistencia), las mutaciones de resistencia a 3TC persistieron en 22 de las 27 muestras iniciales (81,5%). Nuestros resultados pueden tener diferentes lecturas: a) que los virus sí sean hipermutados pero la técnica no lo detecte (lectura incompleta de las secuencias)<sup>118</sup>, b) que los virus sean virus defectivos por mecanismos diferentes a la edición APOBEC (como por ejemplo inserción de *codones stop*) o c) que los virus no identificados como hipermutados correspondan realmente a variantes minoritarias con resistencias archivadas a 3TC y que, en el caso de este estudio piloto, no tengan un impacto deletéreo en el control virológico bajo tratamiento con DTG+3TC.

En nuestro estudio 10 participantes presentaron un repunte viral transitorio ( $CV \geq 50$  copias/mL, precedida y seguida de una  $CV < 50$  copias/mL) entre la visita inicial y la semana 48, a los que se añadieron otros dos participantes entre la semana 48 y 96 (12/41, 29,3%). Es posible que la frecuencia de visitas que requería el estudio en las primeras 48 semanas (7, en todas se realizaba CV) haya podido sobredimensionar el número de repuntes virales transitorios. En el estudio TANGO, también con el mismo número de visitas aunque con un perfil de participantes muy diferente al del ART-PRO (personas sin historia de resistencias), el número de repuntes transitorios de viremia fue similar en el

grupo DTG/3TC y en el basado en TAF y fue significativamente menor al que se observa en nuestro estudio (14/369, 4%)<sup>11</sup>. En el análisis de Gagliardini et al. de terapia dual basada en 3TC + DTG o un IPp se observó un mayor número de repuntes virales transitorios en el grupo con historia de M184V: a 3 años, la probabilidad de permanecer libre de ellos era del 79,8% en el grupo con mutación (IC 95%, 67,8–91,8) frente al 90,1% (IC 95%, 84,0–96,2) del grupo sin mutación ( $p = 0,016$ ). La mutación M184V *per se* no constituía un factor predictivo de FV en dicho estudio, pero sí lo era el nivel de sensibilidad genotípica (GSS, genotypic sensitivity score) del fármaco acompañante, lo cual señala, una vez más, el importante papel del fármaco acompañante cuando se reutiliza 3TC en el seno de una historia previa de resistencias<sup>24</sup>. Según los resultados de Gagliardini et al. (mayor número de repuntes virales transitorios en personas con antecedente de mutación M184V), hubiera sido esperable encontrar en ART-PRO una proporción de repuntes virales mayor en el grupo con historia de resistencia a 3TC, más teniendo en cuenta que en un número no desdeñable de los participantes de este grupo se detectaba la persistencia de mutaciones de resistencia minoritarias archivadas a 3TC. Sin embargo, en nuestro estudio los repuntes virales transitorios ocurrieron de forma similar en ambos grupos. El número limitado de participantes de nuestro estudio dificulta establecer cualquier hipótesis firme que explique el origen de los repuntes virales transitorios. En cualquier caso, ningún repunte en ART-PRO se tradujo en aparición de mutaciones de resistencia o pérdida del control virológico

En ART-PRO se ha utilizado la secuenciación de ADN proviral para excluir candidatos con amplia experiencia en TAR en los que la terapia de mantenimiento con DTG+3TC pudiera ser insegura. Esta técnica no es de uso rutinario hoy en día en la mayoría de los centros que tratan a personas con VIH.

Hay otro factor clínico que se ha propuesto como posible marcador del éxito de esta terapia en el marco de historia de resistencia a 3TC. Se trata del tiempo con CV indetectable previo al cambio de TAR. En el ya mencionado análisis de Gagliardini et al. se observó que las personas con historia de resistencia a 3TC y un tiempo de indetectabilidad inferior a 3 años tenían, comparativamente, un riesgo mayor de FV que aquellos con historia de M184V pero una duración de control virológico superior a 3 años<sup>24</sup>. Su hipótesis es que una mayor duración del control viral bajo tratamiento supresivo puede acompañarse de una disminución del tamaño del reservorio y mayor dificultad para repoblarlo por parte de virus con menor capacidad replicativa. En el análisis de Galizzi et al. sobre terapias duales basadas en DTG (con 3TC o RPV), se observó que las personas que tuvieron un FV habían permanecido menos tiempo con CV indetectable (< 1 año) comparado con aquellas personas que mantuvieron el control virológico (1,49 años)<sup>23</sup>.

En la cohorte ODOACRE la mutación M184V y un tiempo de supresión virológica inferior a 7 años fueron los factores que se relacionaron con mayor tasa de FV<sup>26</sup>. En ART-PRO, los participantes llevaban una media de seis años con CV indetectable previo a entrar en el estudio, es decir, por debajo del límite analizado en la cohorte ODOACRE pero superior al analizado por Gagliardini y Galizzi. Aunque parezca deseable esperar a que el control virológico esté consolidado antes de plantear estrategias de simplificación, y más en el contexto de personas con historia de FV, es complicado establecer una duración de tiempo de indetectabilidad basada en evidencias para considerar que se puede reutilizar 3TC. En DOLULAM no se encontró correlación entre la duración de la supresión virológica y la proporción de variantes M184V/I al inicio del estudio<sup>20</sup>. Referente a la persistencia de mutaciones de resistencia y su relación con el reservorio en el

contexto de CV suprimida, en el estudio GEN-PRO (del que se seleccionaron los participantes para el ensayo ART-PRO) no se observaron diferencias en la cuantificación de la carga proviral (PBMC) entre los sujetos con historia de resistencia a 3TC (n=52) en los que se detectaba la persistencia de las mutaciones M184V/I y/o K65R/E/N por secuenciación poblacional en ADN proviral, y los que no<sup>119</sup>. Tanto el estudio DOLULAM como el ART-PRO orientan hacia la posibilidad de utilizar DTG+3TC como tratamiento de mantenimiento a pesar de persistencia de variantes minoritarias archivadas con resistencia a 3TC, pero ambos estudios adolecen de un tamaño muestral limitado, lo cual dificulta encontrar factores que justifiquen o puedan predecir o no el éxito de esta combinación.

En relación con la seguridad de la medicación del ensayo, no era objeto de esta tesis doctoral hacer un análisis exhaustivo de la tolerancia a la medicación ya que existen estudios (ensayos clínicos aleatorizados y cohortes) con tamaño muestral suficiente como para evaluar la seguridad de DTG+3TC de forma más adecuada. Se describieron un número no desdeñable de EAs relacionados con la medicación a 96 semanas (30), en su gran mayoría leves y autolimitados. Posiblemente el diseño abierto y la búsqueda activa de EAs mediante interrogatorio específico en cada visita influya en que, tanto el participante como los investigadores, hayan podido incurrir en una tendencia a sobre-reportar síntomas. Cabe destacar no obstante que en general la medicación fue bien tolerada, de hecho, tan sólo se describen dos EAs relacionados con DTG+3TC entre las semanas 48 y 96. Solo una persona (1 / 41, 2,44%) abandonó el estudio por presentar un EA bien descrito con anterioridad asociado a DTG, insomnio a semana 8. Esta proporción de discontinuación a DTG por eventos neuropsiquiátricos es ligeramente menor de la descrita en estudios de cohortes<sup>120</sup>. A diferencia de informes recientes en los



que se asocia DTG a un incremento de peso<sup>121</sup>, en ART-PRO no se encontraron diferencias estadísticamente significativas de cambio en peso ni tampoco en colesterol total, HDL, LDL ni triglicéridos entre la visita basal y las semanas 48 y 96.

### 5.1. Limitaciones

Este estudio tiene varias limitaciones. La primera, y más importante, es su pequeño tamaño muestral (propio de la naturaleza exploratoria del ensayo piloto) lo cual conlleva que los resultados de este estudio no puedan extrapolarse a la población VIH general a no ser que se confirmen con un ensayo clínico con la potencia adecuada.

Los criterios de selección para incluir a los participantes en ART-PRO también hacen que los resultados sean aplicables solo a una población muy concreta. En el ensayo se excluyeron a participantes con  $CD4+ < 350$  céls/ $\mu$ L. En un estudio pequeño la desventaja replicativa de la M184V sólo se apreció en personas con  $CD4+$  por encima de 200 céls/ $\mu$ L, mientras que en personas con  $CD4+$  por debajo de 200 céls/ $\mu$ L no se observó un descenso significativo de CV. Los autores hipotetizan que los fenómenos compensatorios de partículas con menor *fitness* viral estarían disminuidos en personas con un sistema inmune más robusto<sup>36</sup>. Otro criterio importante para participar en ART-PRO era que la persona no hubiera recibido INI con anterioridad. La exclusión de participantes que hubieran recibido INI como parte de su régimen de TAR tenía por objetivo garantizar la actividad completa de DTG ya que están descritas resistencias cruzadas entre esta familia de fármacos, si bien es cierto que las resistencias son extremadamente infrecuentes - y más en personas naive a INI<sup>122-125</sup>. En DOLULAM, 9/27 participantes (33,33%) habían sido expuestos a RAL, y como ya se ha reseñado, no hubo ningún caso de FV<sup>20</sup>. Debido a su gran aceptación,

parece muy improbable que en los años venideros haya personas que nunca hayan recibido algún fármaco de esta familia, por lo que sería necesario confirmar la validez de los resultados de este estudio en esta población. De igual manera, tampoco se realizó análisis en ADN proviral de mutaciones de resistencia a INI. Poco se sabe del potencial impacto clínico que puedan tener las mutaciones minoritarias y/o archivadas a la integrasa.

En la cohorte española INSTINCT de personas naive se realizó un análisis previo al inicio de un régimen que incluía RAL, EVG o DTG y se observó una prevalencia de mutaciones de resistencia a integrasa mediante NGS (límite 1-19%) del 9,6% (14/146), que, sin embargo, no afectaron al control virológico a 96 semanas<sup>126</sup>. En el caso de personas expuestas con anterioridad a INI, los datos son aún más escasos. En un análisis de 12 personas con FV a EVG y resistencias en la integrasa por secuenciación poblacional en plasma del estudio GS-US-183-0105 (estudio de búsqueda de dosis de EVG) se observó que en la mitad de los participantes (6/12) se identificaron un total de 9 mutaciones de resistencia adicionales a INI mediante secuenciación masiva (con frecuencias entre 2,6-11,3%), y los autores consideraron que estas podrían haber jugado un papel relevante en el FV<sup>127</sup>. Por el contrario, Mazzuti et al publicaron un caso en el que las mutaciones de resistencia archivadas en la integrasa no afectaron al control virológico bajo tratamiento con DTG. Se trataba de un varón con infección VIH de muy larga evolución y FV a cuatro familias de fármacos (ITIAN, ITINN, IP e inhibidores de la fusión) con FV a RAL y genotipo en el que se objetivaron las mutaciones E138A, G140S, Q148H, en plasma y en PBMC. Tras un año sin RAL, y bajo tratamiento con ABC/3TC+ RPV, se repitió el estudio en plasma y no se detectaron mutaciones a INI, iniciándose en ese momento tratamiento con DTG a doble dosis junto a TDF/FTC con lo que se obtuvo el control virológico y

mejoría significativa en cifras de CD4+. Al año del tratamiento, con CV suprimida, se repitió estudio genotípico en ADN proviral en el que aún persistían las mutaciones de resistencia a INI detectadas en el genotipo inicial, sin que éstas afectasen al control virológico<sup>128</sup>. Otra limitación de ART-PRO es que tampoco se han analizado en NGS las mutaciones asociadas a timidina, cuya acumulación puede dar lugar a una susceptibilidad reducida a 3TC<sup>129</sup>.

La utilización de ADN proviral como criterio de exclusión también limita la aplicabilidad de este estudio ya que, actualmente, esta técnica no es de uso rutinario en la mayoría de los centros hospitalarios por su precio y requerimientos técnicos<sup>130</sup>. No obstante, no es descartable que en un futuro próximo estas técnicas se incorporen al arsenal diagnóstico ya que permiten analizar un amplio número de muestras (con lo cual podría centralizarse su uso, reduciendo costes<sup>131</sup>) y existen nuevas plataformas de NGS en fase de desarrollo avanzado (por ejemplo veSEQ-HIV) con importantes ventajas comparado con las versiones actuales<sup>132</sup>. En ART-PRO, se realizó la secuenciación Sanger de ADN en sangre total mientras que la NGS se realizó en PBMC, lo cual puede haber afectado a la concordancia entre las dos técnicas. Aunque se ha demostrado buena correlación de la medición de ADN-VIH-1 entre sangre total y PBMC<sup>133</sup>, queda por determinar si esta concordancia se mantendría también para el estudio de resistencias. Excluyendo a los dos participantes en los que la secuenciación Sanger detectó la mutación M184V (violación del protocolo), según el análisis de NGS habría otros 6 participantes adicionales que no hubieran entrado en el estudio si el punto de corte excluyente hubiera sido NGS > 20% (el límite equivalente al umbral de detección de la secuenciación poblacional).

Existen dos limitaciones adicionales en ART-PRO. Aunque se realizaba control de la medicación devuelta en cada visita, por un cambio en el método de

dispensación durante el estudio no se ha podido realizar un cálculo exacto de la adherencia. En este estudio se utilizó DTG y 3TC en comprimidos separados, ya que no se había comercializado aún la combinación en comprimido único. Desconocemos si esto pudiera haber afectado a la adherencia al tratamiento. A pesar de ello, se podría inferir que la adherencia global en el estudio ha sido buena teniendo en cuenta que no ha habido ningún caso de FV y que los participantes del estudio mantenían buen control virológico en los años previos a participar en ART-PRO. Por último, el estudio aporta datos a 96 semanas y podría argumentarse que es un tiempo escaso de seguimiento, hecho que se ha intentado subsanar prolongando el estudio a 144 semanas.

## **5.2. ¿Qué aporta este trabajo?**

ART-PRO es el primer ensayo clínico diseñado específicamente para aportar evidencia preliminar acerca de la eficacia de DTG+3TC como tratamiento de mantenimiento en personas naive a INI con historia de resistencia a 3TC en los que la secuenciación poblacional de ADN proviral no detecta mutaciones de resistencia a 3TC previo al *switch*. Los resultados de este ensayo cuestionan la hipótesis de que un tratamiento con DTG+3TC en contexto de resistencias a 3TC resulta en una monoterapia funcional con DTG. Las mutaciones de resistencia a 3TC archivadas detectadas solo mediante NGS de ADN proviral no tuvieron un impacto negativo en el control virológico, ya que no hubo ningún caso de FV.

Los resultados de ART-PRO contradicen uno de los principales dogmas del tratamiento antirretroviral, que es que no deben usarse fármacos frente a los que se han detectado resistencias previamente, y abre la posibilidad de que en personas con amplia experiencia al TAR e historia de resistencia M184V/I o K65R pueda reutilizarse 3TC, dándoles la oportunidad de recibir uno de los

tratamientos más recomendados en la actualidad, en un régimen simplificado que evita toxicidades.

Los resultados de ART-PRO por tanto apoyan que se investigue con mayor profundidad el uso de la combinación DTG+3TC como tratamiento de mantenimiento en personas con historia de resistencia a 3TC. Un estudio piloto con resultados positivos solo tiene sentido si conduce a la realización de un ensayo con un tamaño muestral adecuado que confirme definitivamente sus hallazgos preliminares. En nuestro caso este estudio, “Virologic Outcomes of Lamivudine/Dolutegravir in Virologically suppressed subjects with Expected or confirmed Resistance to Lamivudine” (estudio VOLVER, EudraCT 2021-000290-84), ya está en fase aprobación por las agencias reguladoras.

# Conclusiones

---

## 6. Conclusiones

1. En el ensayo clínico piloto ART-PRO, de prueba de concepto, DTG+3TC fue eficaz en el mantenimiento del control virológico en personas sin tratamiento previo con inhibidores de la integrasa con historia de resistencia a 3TC, en los que la secuenciación poblacional de ADN proviral no detectó mutaciones de resistencia a 3TC en el momento de cambio del TAR.
2. Tras dos años de seguimiento, no hubo ningún caso de fracaso virológico.
3. La secuenciación masiva de ADN proviral (NGS) identificó un número significativo de participantes con mutaciones de resistencia a 3TC por debajo del umbral de detección de la secuenciación poblacional, sin que estas afectasen negativamente al control virológico a 96 semanas.
4. Los resultados de este estudio piloto apoyan la realización un ensayo clínico adecuadamente potenciado que pueda confirmar los hallazgos.

## Referencias, índice de tablas y figuras, anexos

---



## 7. Referencias

1. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. *Dep Heal Hum Serv.* 2019. <https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/adultandadolescentgl.pdf>.
2. The Strategies for Management of Antiretroviral Therapy (SMART) Study Group, El-Sadr WM, Lundgren JD, et al. CD4+ count-guided interruption of antiretroviral treatment. *N Engl J Med.* 2006;355(22):2283-2296. doi:10.1056/NEJMoa062360
3. Imaz A, Olmo M, Peñaranda M, et al. Short-term and long-term clinical and immunological consequences of stopping antiretroviral therapy in HIV-infected patients with preserved immune function. *Antivir Ther.* 2013;18(1):125-130. doi:10.3851/IMP2249
4. Margolis AM, Heverling H, Pham PA, Stolbach A. A Review of the Toxicity of HIV Medications. *J Med Toxicol.* 2014;10(1):26-39. doi:10.1007/s13181-013-0325-8
5. Devanathan AS, Anderson DJC, Cottrell ML, Burgunder EM, Saunders AC, Kashuba ADM. Contemporary Drug-Drug Interactions in HIV Treatment. *Clin Pharmacol Ther.* 2019;105(6):1362-1377. doi:10.1002/cpt.1393
6. Gimeno-Gracia M, Crusells-Canales MJ, Armesto-Gomez FJ, Rabanaque-Hernandez MJ. Prevalence of concomitant medications in older HIV+ patients and comparison with general population. *HIV Clin Trials.* 2015;16(3):117-124. doi:10.1179/1528433614Z.0000000012
7. de Miguel Buckley R, Montejano R, Stella-Ascariz N, Arribas JR. New Strategies of ARV: the Road to Simplification. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2018;15(1):11-19. doi:10.1007/s11904-018-0371-6
8. EACS Guidelines version 10.1, October 2020. 2020. doi:10.1111/fcre.12520
9. van Wyk J, Ajana F, Bisshop F, et al. Efficacy and Safety of Switching to Dolutegravir/Lamivudine Fixed-Dose Two-Drug Regimen Versus Continuing a Tenofovir Alafenamide-Based Three- or Four-Drug Regimen for Maintenance of Virologic Suppression in Adults With HIV-1: Phase 3, Randomized, Non-inf. *Clin Infect Dis.* 2020;53(9):1-30. doi:10.1093/cid/ciz1243

10. Ait-Khaled M, Nascimento MC, Pappa KA, et al. Switching to DTG/3TC fixed dose combination (FDC) is non-inferior to continuing a TAF-based regimen (TBR) through 48 weeks: subgroup analyses from the TANGO study. PS 7/2. In: *European AIDS Conference.* ; 2019.
11. Wang R, Horton J, Wright J, et al. Switching from a 3-drug tenofovir alafenamide (TAF)-based regimen (TBR) to a 2-drug dolutegravir/lamivudine (2DR, DTG/3TC FDC) was not associated with a higher frequency of intermittent viremia in suppressed patients in the TANGO study. PE 3/15. In: *European AIDS Conference.* ; 2019.
12. Wang R, Wright J, Ait-khaled M, et al. Assessing the virologic impact of archived resistance in an HIV-1 switch study TANGO through week 48. Abstract 489. In: *CROI 2020. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. March 8-11, 2020, Boston.* ; 2020.
13. Van Wyk J, Ajana F, Bisshop F, et al. Switching to DTG/3TC fixed-dose combination (FDC) Is non-inferior to continuing a TAF-based regimen (TBR) in maintaining virologic suppression through 96 weeks (TANGO Study). In: *Glasgow 2020 Oct 5-8 Virtual.* ; 2020. doi:10.1016/j.jiph.2020.01.117
14. Blanco JL, Rojas J, Paredes R, et al. Dolutegravir-based maintenance monotherapy versus dual therapy with lamivudine: A planned 24 week analysis of the DOLAM randomized clinical trial. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(7):1965-1971. doi:10.1093/jac/dky093
15. Joly V, Burdet C, Landman R, et al. Dolutegravir and lamivudine maintenance therapy in HIV-1 virologically suppressed patients: Results of the ANRS 167 trial (LAMIDOL). *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(3):739-745. doi:10.1093/jac/dky467
16. Taiwo BO, Marconi VC, Berzins B, et al. Dolutegravir Plus Lamivudine Maintains Human Immunodeficiency Virus-1 Suppression Through Week 48 in a Pilot Randomized Trial. *Clin Infect Dis.* 2018;66(11):1794-1797. doi:10.1093/cid/cix1131
17. Charpentier C, Peytavin G, Burdet C, et al. Residual HIV-1 RNA , HIV-1 DNA , and drug plasma Cmin in dual DTG + 3TC , ANRS 167 LAMIDOL. Abstract 491. In: *Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections (CROI).* ; 2017.
18. Gianella S, Marconi VC, Berzins B, et al. Genital HIV-1 Shedding With Dolutegravir (DTG) Plus Lamivudine (3TC) Dual Therapy. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr.* 2018;79(5):e112-e114. doi:10.1097/QAI.0000000000001863

19. Li JZ, Sax PE, Marconi VC, et al. No significant changes to residual viremia after switch to dolutegravir and lamivudine in a randomized trial. *Open Forum Infect Dis.* 2019;6(3):5-8. doi:10.1093/ofid/ofz056
20. Charpentier C, Montes B, Perrier M, Meftah N, Reynes J. HIV-1 DNA ultra-deep sequencing analysis at initiation of the dual therapy dolutegravir lamivudine in the maintenance DOLULAM pilot study. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72(10):2831-2836. doi:10.1093/jac/dkx233
21. Reynes J, Meftah N, Tuaillon E, Charpentier C, Montes B. Dual regimen with dolutegravir and lamivudine maintains virologic suppression even in heavily treatment experienced HIV-infected patients: 96 weeks results from maintenance DOLULAM study. *IAS 2017.* 2017.
22. Reynes J, Montes B, Tuaillon E, Meftah N, Fernandez C. Virological efficacy and tolerability of dual therapy maintenance with Dolutegravir plus Lamivudine In heavily treatment experienced HIV-infected patients: four years data from DOLULAM study. PEB0241. In: *International AIDS Conference 2020 (Virtual).*
23. Galizzi N, Poli A, Galli L, et al. Retrospective Study On The Outcomes Of Two-drugs Regimens Based On Dolutegravir Plus One Reverse Transcriptase Inhibitor In Virologically Suppressed, HIV-Infected Patients. *Int J Antimicrob Agents.* 2020:105893. doi:10.1016/j.ijantimicag.2020.105893
24. Gagliardini R, Ciccullo A, Borghetti A, et al. Impact of the M184V Resistance Mutation on Virological Efficacy and Durability of Lamivudine-Based Dual Antiretroviral Regimens as Maintenance Therapy in Individuals With Suppressed HIV-1 RNA: A Cohort Study. *Open Forum Infect Dis.* 2018;5(6):1-8. doi:10.1093/ofid/ofy113
25. Ciccullo A, Baldin G, Capetti A, et al. Cohort profile: The Observational cohort for the study of Dolutegravir in Antiretroviral Combination Regimens (ODOACRE). *BMJ Open.* 2019;9(12):1-7. doi:10.1136/bmjopen-2019-029960
26. Baldin G, Ciccullo A, Rusconi S, et al. Long-term data on the efficacy and tolerability of lamivudine plus dolutegravir as a switch strategy in a multi-centre cohort of HIV-1-infected, virologically suppressed patients. *Int J Antimicrob Agents.* 2019;54(6):728-734. doi:10.1016/j.ijantimicag.2019.09.002
27. Stanford HIV Drug Resistance Database. Major HIV-1 Drug Resistance Mutations Updated Oct 10, 2019. hivdb.stanford.edu.

28. World Health Organization (WHO). *HIV Drug Resistance Report.*; 2019. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Who+hiv+drug+resistance+report+2012#5>.
29. Gregson J, Tang M, Ndembi N, et al. Global epidemiology of drug resistance after failure of WHO recommended first-line regimens for adult HIV-1 infection: a multicentre retrospective cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2016;16(5):565-575. doi:10.1016/S1473-3099(15)00536-8
30. Ciaffi L, Koulla-Shiro S, Sawadogo AB, et al. Boosted protease inhibitor monotherapy versus boosted protease inhibitor plus lamivudine dual therapy as second-line maintenance treatment for HIV-1-infected patients in sub-Saharan Africa (ANRS12 286/MOBIDIP): a multicentre, randomised, parallel, open-label. *Lancet HIV.* 2017;4(9):e384-e392. doi:10.1016/S2352-3018(17)30069-3
31. Stirrup OT, Asboe D, Pozniak A, et al. Continuation of emtricitabine/lamivudine within combination antiretroviral therapy following detection of the M184V/I HIV-1 resistance mutation. *HIV Med.* 2020;1-13. doi:10.1111/hiv.12829
32. Pouga L, Santoro MM, Charpentier C, et al. New resistance mutations to nucleoside reverse transcriptase inhibitors at codon 184 of HIV-1 reverse transcriptase (M184L and M184T). *Chem Biol Drug Des.* 2019;93(1):50-59. doi:10.1111/cbdd.13378
33. Wainberg MA. The impact of the M184V substitution on drug resistance and viral fitness. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2004;2(1):147-151.
34. Diallo K, Götte M, Wainberg MA. Molecular Impact of the M184V Mutation in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Reverse Transcriptase. *Antimicrob Agents Chemother.* 2003;47(11):3377-3383. doi:10.1128/AAC.47.11.3377-3383.2003
35. Turner D, Brenner BG, Routy JP, Petrella M, Wainberg MA. Rationale for maintenance of the M184V resistance mutation in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase in treatment experienced patients. *New Microbiol.* 2004;27(2 SUPPL. 1):31-39.
36. Frost SDW, Nijhuis M, Schuurman R, Boucher CAB, Brown AJL. Evolution of Lamivudine Resistance in Human Immunodeficiency Virus Type 1-Infected Individuals: the Relative Roles of Drift and Selection. *J Virol.* 2000;74(14):6262-6268. doi:10.1128/jvi.74.14.6262-6268.2000
37. Fourati S, Malet I, Lambert S, et al. E138K and M184I mutations in HIV-1 reverse

- transcriptase coemerge as a result of APOBEC3 editing in the absence of drug exposure. *AIDS*. 2012;26(13):1619-1624. doi:10.1097/QAD.0b013e3283560703
38. Brenner BG, Coutsinos D. The K65R mutation in HIV-1 reverse transcriptase: Genetic barriers, resistance profile and clinical implications. *HIV Ther*. 2009;3(6):583-594. doi:10.2217/hiv.09.40
  39. Wolf K, Walter H, Beerenwinkel N, et al. Tenofovir Resistance and Resensitization. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(11):3478-3484. doi:10.1128/AAC.47.11.3478-3484.2003
  40. Ross L, Parkin N, Chappey C, et al. Phenotypic impact of HIV reverse transcriptase M184I/V mutations in combination with single thymidine analog mutations on nucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance. *AIDS*. 2004;18(12):1691-1696. doi:10.1097/01.aids.0000131355.44834.e4
  41. Oliveira M, Ibanescu RI, Pham HT, Brenner B, Mesplede T, Wainberg MA. The M184I/V and K65R nucleoside resistance mutations in HIV-1 prevent the emergence of resistance mutations against dolutegravir. *AIDS*. 2016;30(15):2267-2273. doi:10.1097/QAD.0000000000001191
  42. Pham HT, Mesplède T, Wainberg MA. Effect on HIV-1 viral replication capacity of DTG-resistance mutations in NRTI/NNRTI resistant viruses. *Retrovirology*. 2016;13(1):1-10. doi:10.1186/s12977-016-0265-x
  43. Singhroy DN, Wainberg MA, Mesplède T. Combination of the R263K and M184I/V resistance substitutions against dolutegravir and lamivudine decreases HIV replicative capacity. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(5):2882-2885. doi:10.1128/AAC.05181-14
  44. Oliveira M, Mesplède T, Quashie PK, Moïsi D, Wainberg MA. Resistance mutations against dolutegravir in HIV integrase impair the emergence of resistance against reverse transcriptase inhibitors. *AIDS*. 2014;28(6):813-819. doi:10.1097/QAD.0000000000000199
  45. Quan Y, Brenner BG, Oliveira M, Wainberg MA. Lamivudine can exert a modest antiviral effect against human immunodeficiency virus type 1 containing the M184V mutation. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(2):747-754. doi:10.1128/AAC.47.2.747-754.2003
  46. Campbell TB, Shulman NS, Johnson SC, et al. Antiviral Activity of Lamivudine in Salvage Therapy for Multidrug-Resistant HIV-1 Infection. *Clin Infect Dis*.

2005;41(2):236-242. doi:10.1086/430709

47. Castagna A, Danise A, Menzo S, et al. Lamivudine monotherapy in HIV-1-infected patients harbouring a lamivudine-resistant virus: A randomized pilot study (E-184V study). *AIDS*. 2006;20(6):795-803. doi:10.1097/01.aids.0000218542.08845.b2
48. Fox Z, Dragsted UB, Gerstoft J, et al. A randomized trial to evaluate continuation versus discontinuation of lamivudine in individuals failing a lamivudine-containing regimen: The COLATE trial. *Antivir Ther*. 2006;11(6):761-770.
49. Tashima KT, Smeaton LM, Fichtenbaum CJ, et al. HIV Salvage Therapy Does Not Require Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors. *Ann Intern Med*. 2015;163(12):908. doi:10.7326/M15-0949
50. Tashima KT, Mollan KR, Na L, et al. Regimen selection in the OPTIONS trial of HIV salvage therapy: drug resistance, prior therapy, and race–ethnicity determine the degree of regimen complexity. *HIV Clin Trials*. 2015;16(4):147-156. doi:10.1179/1945577115Y.0000000001
51. La Rosa AM, Harrison LJ, Taiwo B, et al. Raltegravir in second-line antiretroviral therapy in resource-limited settings (SELECT): a randomised, phase 3, non-inferiority study. *Lancet HIV*. 2016;3(6):e247-e258. doi:10.1016/S2352-3018(16)30011-X
52. Paton NI, Kityo C, Hoppe A, et al. Assessment of second-line antiretroviral regimens for HIV therapy in Africa. *N Engl J Med*. 2014;371(3):234-247. doi:10.1056/NEJMoa1311274
53. Hakim JG, Thompson J, Kityo C, et al. Lopinavir plus nucleoside reverse-transcriptase inhibitors, lopinavir plus raltegravir, or lopinavir monotherapy for second-line treatment of HIV (EARNEST): 144-week follow-up results from a randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(1):47-57. doi:10.1016/S1473-3099(17)30630-8
54. SECOND LINE Study Group. Ritonavir-boosted lopinavir plus nucleoside or nucleotide reverse transcriptase inhibitors versus ritonavir-boosted lopinavir plus raltegravir for treatment of HIV-1 infection in adults with virological failure of a standard first-line ART regimen (SECOND). *Lancet*. 2013;381(9883):2091-2099. doi:10.1016/S0140-6736(13)61164-2
55. Hill AM, Venter F. The unexpected success of NRTIs in second-line treatment.

56. Paton NI, Kityo C, Thompson J, et al. Nucleoside reverse-transcriptase inhibitor cross-resistance and outcomes from second-line antiretroviral therapy in the public health approach: an observational analysis within the randomised, open-label, EARNEST trial. *Lancet HIV.* 2017;4(8):e341-e348. doi:10.1016/S2352-3018(17)30065-6
57. Aboud M, Kaplan R, Lombaard J, et al. Dolutegravir versus ritonavir-boosted lopinavir both with dual nucleoside reverse transcriptase inhibitor therapy in adults with HIV-1 infection in whom first-line therapy has failed (DAWNING): an open-label, non-inferiority, phase 3b trial. *Lancet Infect Dis.* 2019;19(3):253-264. doi:10.1016/S1473-3099(19)30036-2
58. Trottier B, Longpré D, Dion H, et al. Removing inactive NRTIs in a salvage regimen is safe, maintains virological suppression and reduces treatment costs: 96 weeks post VERITAS study. *J Int AIDS Soc.* 2014;17(November):19815. doi:10.7448/ias.17.4.19815
59. Llibre JM, Alvarez H, Antela A, et al. Withdrawing inactive NRTIs in HIV-1 subjects with suppressed viraemia: A randomized trial. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(5):1346-1351. doi:10.1093/jac/dkv461
60. Armero A, Chaix ML, Nere ML, Delaporte E, Peeters M, Delaugerre C. Presence and frequency of M184V mutation in the MOBIDIP trial. Abstract A10. In: *23rd International Bioinformatics Workshop on Virus Evolution and Molecular Epidemiology.* ; 2018.
61. Andreatta K, Willkom M, Martin R, et al. Switching to bictegravir/emtricitabine/tenofovir alafenamide maintained HIV-1 RNA suppression in participants with archived antiretroviral resistance including M184V/I. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(12):3555-3564. doi:10.1093/jac/dkz347
62. Olearo F, Nguyen H, Bonnet F, et al. Impact of the M184V/I Mutation on the Efficacy of Abacavir/Lamivudine/Dolutegravir Therapy in Human Immunodeficiency Virus Treatment-Experienced Patients. *Open Forum Infect Dis.* July 2019:1-39. doi:10.1093/ofid/ofz330
63. Giacomelli A, Lai A, Franzetti M, et al. No impact of previous NRTIs resistance in HIV positive patients switched to DTG+2NRTIs under virological control: Time of viral suppression makes the difference. *Antiviral Res.* 2019;172(September):104635. doi:10.1016/j.antiviral.2019.104635

64. Pandit NS, Chastain DB, Pallotta AM, Badowski ME, Huesgen EC, Michienzi SM. Simplifying ARV Therapy in the Setting of Resistance. *Curr Infect Dis Rep.* 2019;21(10). doi:10.1007/s11908-019-0691-8
65. Sax PE, Rockstroh JK, Luetkemeyer AF, et al. Switching to Bictegravir, Emtricitabine, and Tenofovir Alafenamide in Virologically Suppressed Adults With Human Immunodeficiency Virus. *Clin Infect Dis.* July 2020. doi:10.1093/cid/ciaa988
66. Acosta RK, Willkom M, Andreatta K, et al. Switching to Bictegravir/Emtricitabine/Tenofovir Alafenamide (B/F/TAF) From Dolutegravir (DTG)+F/TAF or DTG+F/Tenofovir Disoproxil Fumarate (TDF) in the Presence of Pre-existing NRTI Resistance. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr.* 2020;85(3):363-371. doi:10.1097/QAI.0000000000002454
67. Perez-Valero I, Llibre JM, Castagna A, et al. Switching to Elvitegravir/Cobicistat/Emtricitabine/Tenofovir Alafenamide in Adults With HIV and M184V/I Mutation. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr.* 2020;Publish Ah. doi:10.1097/QAI.0000000000002595
68. Martinez E, Larrousse M, Llibre JM, et al. Substitution of raltegravir for ritonavir-boosted protease inhibitors in HIV-infected patients: The SPIRAL study. *AIDS.* 2010;24(11):1697-1707. doi:10.1097/QAD.0b013e32833a608a
69. Eron JJ, Young B, Cooper DA, et al. Switch to a raltegravir-based regimen versus continuation of a lopinavir-ritonavir-based regimen in stable HIV-infected patients with suppressed viraemia (SWITCHMRK 1 and 2): two multicentre, double-blind, randomised controlled trials. *Lancet.* 2010;375(9712):396-407. doi:10.1016/S0140-6736(09)62041-9
70. Allavena C, Rodallec A, Leplat A, et al. Interest of proviral HIV-1 DNA genotypic resistance testing in virologically suppressed patients candidate for maintenance therapy. *J Virol Methods.* 2018;251(October 2017):106-110. doi:10.1016/j.jviromet.2017.10.016
71. Wirten M, Soulie C, Valantin MA, et al. Historical HIV-RNA resistance test results are more informative than proviral DNA genotyping in cases of suppressed or residual viraemia. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(4):709-712. doi:10.1093/jac/dkq544
72. Delaugerre C, Braun J, Charreau I, et al. Comparison of resistance mutation patterns in historical plasma HIV RNA genotypes with those in current proviral



- HIV DNA genotypes among extensively treated patients with suppressed replication. *HIV Med.* 2012;13(9):517-525. doi:10.1111/j.1468-1293.2012.01002.x
73. Boukli N, Boyd A, Collot M, Meynard JL, Girard PM, Morand-Joubert L. Utility of HIV-1 DNA genotype in determining antiretroviral resistance in patients with low or undetectable HIV RNA viral loads. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(11):3129-3136. doi:10.1093/jac/dky316
  74. Verhofstede C, Noë A, Demecheleer E, et al. Drug-Resistant Variants That Evolve during Nonsuppressive Therapy Persist in HIV-1-Infected Peripheral Blood Mononuclear Cells after Long-Term Highly Active Antiretroviral Therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2004;35(5):473-483. doi:10.1097/00126334-200404150-00005
  75. Nouchi A, Nguyen T, Valantin MA, et al. Dynamics of drug resistance-associated mutations in HIV-1 DNA reverse transcriptase sequence during effective ART. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73(8):2141-2146. doi:10.1093/jac/dky130
  76. Gantner P, Morand-Joubert L, Sueur C, et al. Drug resistance and tropism as markers of the dynamics of HIV-1 DNA quasispecies in blood cells of heavily pretreated patients who achieved sustained virological suppression. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71(3):751-761. doi:10.1093/jac/dkv395
  77. Abdi B, Nguyen T, Brouillet S, et al. No HIV-1 molecular evolution on long term antiretroviral therapy initiated during primary HIV-1 infection. *AIDS.* 2020;Publish Ah(11):1465-1474. doi:10.1097/QAD.0000000000002629
  78. Noguera-Julian M, Cozzi-Lepri A, Di Giallonardo F, et al. Contribution of APOBEC3G/F activity to the development of low-abundance drug-resistant human immunodeficiency virus type 1 variants. *Clin Microbiol Infect.* 2016;22(2):191-200. doi:10.1016/j.cmi.2015.10.004
  79. Armitage AE, Deforche K, Chang C hao, et al. APOBEC3G-induced hypermutation of human immunodeficiency virus type-1 is typically a discrete “all or nothing” phenomenon. *PLoS Genet.* 2012;8(3):22-24. doi:10.1371/journal.pgen.1002550
  80. Ji H, Sandstrom P, Paredes R, et al. Are We Ready for NGS HIV Drug Resistance Testing? The Second “Winnipeg Consensus” Symposium. *Viruses.* 2020;12(6):586. doi:10.3390/v12060586
  81. Domínguez-Domínguez L, Montejano R, Esteban-cantos A, et al. Prevalence and

- factors associated to the detection (population and next generation sequencing) of archived 3TC resistance mutations in aviremic HIV-infected adults (GEN- PRO). PE13/2. In: *17th European AIDS Conference.* ; 2019.
82. Underwood MR, Ross LL, Irlbeck DM, et al. Sensitivity of Phenotypic Susceptibility Analyses for Nonthymidine Nucleoside Analogues Conferred by K65R or M184V in Mixtures with Wild-Type HIV-1. *J Infect Dis.* 2009;199(1):84-88. doi:10.1086/595296
  83. Li JZ, Kuritzkes DR. Clinical Implications of HIV-1 Minority Variants. *Clin Infect Dis.* 2013;56(11):1667-1674. doi:10.1093/cid/cit125
  84. Raymond S, Nicot F, Pallier C, et al. Impact of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Minority Variants on the Virus Response to a Rilpivirine-Based First-line Regimen. *Clin Infect Dis.* 2018;66(10):1588-1594. doi:10.1093/cid/cix1070
  85. Li JZ, Paredes R, Ribaudo H, et al. Low-Frequency HIV-1 Drug Resistance Mutations and Risk of NNRTI-Based Antiretroviral Treatment Failure. *JAMA.* 2011;305(13):1327. doi:10.1001/jama.2011.375
  86. Derache A, Iwuji CC, Baisley K, et al. Impact of next-generation sequencing defined human immunodeficiency virus pretreatment drug resistance on virological outcomes in the ANRS 12249 treatment-as-prevention trial. *Clin Infect Dis.* 2019;69(2):207-214. doi:10.1093/cid/ciy881
  87. Porter DP, Toma J, Tan Y, et al. Clinical outcomes of virologically-suppressed patients with pre-existing HIV-1 drug resistance mutations switching to rilpivirine/emtricitabine/tenofovir disoproxil fumarate in the SPIRIT study. *HIV Clin Trials.* 2016;17(1):29-37. doi:10.1080/15284336.2015.1115585
  88. Opravil M, Hirschel B, Lazzarin A, et al. A randomized trial of simplified maintenance therapy with abacavir, lamivudine, and zidovudine in human immunodeficiency virus infection. *J Infect Dis.* 2002;185(9):1251-1260. doi:10.1086/340312
  89. Pellegrin I, Caumont A, Garrigue I, et al. Predictive value of provirus load and DNA human immunodeficiency virus genotype for successful abacavir-based simplified therapy. *J Infect Dis.* 2003;187(1):38-46. doi:10.1086/345860
  90. Palmisano L, Galluzzo CM, Giuliano M. The Importance of Testing Genotypic Resistance in Proviral DNA of Patients Fully Responding to Highly Active Antiretroviral Therapy. *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr.* 2009;51(2):233-234.

91. Lathouwers E, Wong EY, Brown K, et al. Week 48 Resistance Analyses of the Once-Daily, Single-Tablet Regimen Darunavir/Cobicistat/Emtricitabine/Tenofovir Alafenamide (D/C/F/TAF) in Adults Living with HIV-1 from the Phase III Randomized AMBER and EMERALD Trials. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2020;36(1):48-57. doi:10.1089/aid.2019.0111
92. Meybeck A, Alidjinou EK, Huleux T, et al. Virological Outcome after Choice of Antiretroviral Regimen Guided by Proviral HIV-1 DNA Genotyping in a Real-Life Cohort of HIV-Infected Patients. *AIDS Patient Care STDS*. 2020;34(2):51-58. doi:10.1089/apc.2019.0198
93. Morlat P. Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH. Recommandations du groupe d'experts. Optimisation d'un traitement antirétroviral en situation de succès virologique (juillet 2017). Accedido Septiembre 2020. <https://cns.sante.fr/actualites/prise-en-charge-du-vih-recommandations-du-groupe-dexperts/>.
94. Perrier M, Visseaux B, Landman R, et al. No impact of HIV-1 protease minority resistant variants on the virological response to a first-line PI-based regimen containing darunavir or atazanavir. *J Antimicrob Chemother*. 2018;73(1):173-176. doi:10.1093/jac/dkx366
95. Schmieder R, Edwards R. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. *Bioinformatics*. 2011;27(6):863-864. doi:10.1093/bioinformatics/btr026
96. Magoč T, Salzberg SL. FLASH: Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. *Bioinformatics*. 2011;27(21):2957-2963. doi:10.1093/bioinformatics/btr507
97. US. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration. Center for Drug Evaluation and Research. Human Immunodeficiency Virus-1 infection: Developing antiretroviral drugs for treatment. Guidance for industry. 2015. <http://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/default.htm%0Ahttp://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceinformation/guidances/ucm355128.pdf>.
98. World Medical Association. Declaration of Helsinki- Ethical principles for medical research involving human subjects. *World Med Assoc*. 2013.

99. The European Medicines Agency - EMA. Dovato: EPAR Medicine Overview. 2020.
100. Medina-Moreno S, Zapata JC, Kashanchi F, et al. Lamivudine-resistant HIVM184V is durably suppressed with dolutegravir plus lamivudine dual therapy in humanised mice. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;20:316-317. doi:10.1016/j.jgar.2020.01.018
101. Wijting I, Rokx C, Boucher C, et al. Dolutegravir as maintenance monotherapy for HIV (DOMONO): a phase 2, randomised non-inferiority trial. *Lancet HIV*. 2017;4(12):e547-e554. doi:10.1016/S2352-3018(17)30152-2
102. Hocqueloux L, Raffi F, Prazuck T, et al. Dolutegravir Monotherapy Versus Dolutegravir/Abacavir/Lamivudine for Virologically Suppressed People Living With Chronic Human Immunodeficiency Virus Infection: The Randomized Noninferiority MONotherapy of TiviCAY Trial. *Clin Infect Dis*. 2019;69(9):1498-1505. doi:10.1093/cid/ciy1132
103. Trevillyan JM, Hoy JF. Dolutegravir monotherapy as maintenance ART bites the dust. *Lancet HIV*. 2017;4(12):e531-e532. doi:10.1016/S2352-3018(17)30168-6
104. Kuritzkes DR. Resistance to dolutegravir-a chink in the armor? *J Infect Dis*. 2018;218(5):673-675. doi:10.1093/infdis/jiy186
105. Arribas JR, Girard PM, Paton N, et al. Efficacy of protease inhibitor monotherapy vs. triple therapy: Meta-analysis of data from 2303 patients in 13 randomized trials. *HIV Med*. 2016;17(5):358-367. doi:10.1111/hiv.12348
106. Wijting IEA, Lungu C, Rijnders BJA, et al. HIV-1 resistance dynamics in patients with virologic failure to dolutegravir maintenance monotherapy. *J Infect Dis*. 2018;218(5):688-697. doi:10.1093/infdis/jiy176
107. Darcis G, Berkhout B. Human Immunodeficiency Virus Resistance to Dolutegravir: Are We Looking in the Wrong Place? *J Infect Dis*. 2018;218(12):2020. doi:10.1093/infdis/jiy474
108. Das AT, Berkhout B. How Polypurine Tract Changes in the HIV-1 RNA Genome Can Cause Resistance against the Integrase Inhibitor Dolutegravir. Paraskevis D, ed. *MBio*. 2018;9(2):10-13. doi:10.1128/mBio.00006-18
109. Van Rompay KKA, Hassounah S, Keele BF, et al. Dolutegravir Monotherapy of Simian Immunodeficiency Virus-Infected Macaques Selects for Several Patterns of Resistance Mutations with Variable Virological Outcomes. *J Virol*. 2018;93(2):1-

14. doi:10.1128/jvi.01189-18
110. Wijting I, Rutsaert S, Rokx C, et al. Predictors of virological failure in HIV-1-infected patients switching to dolutegravir maintenance monotherapy. *HIV Med.* 2019;20(1):63-68. doi:10.1111/hiv.12675
  111. Tebano G, Soulié C, Schneider L, et al. Long-term follow-up of HIV-infected patients on dolutegravir monotherapy. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(3):675-680. doi:10.1093/jac/dkz478
  112. Braun DL, Turk T, Tschumi F, et al. Noninferiority of Simplified Dolutegravir Monotherapy Compared to Continued Combination Antiretroviral Therapy That Was Initiated During Primary Human Immunodeficiency Virus Infection: A Randomized, Controlled, Multisite, Open-label, Noninferiority Trial. *Clin Infect Dis.* 2019;69(9):1489-1497. doi:10.1093/cid/ciy1131
  113. Wandeler G, Buzzi M, Anderegg N, et al. Virologic failure and HIV drug resistance on simplified, dolutegravir-based maintenance therapy: Systematic review and meta-analysis. *F1000Research.* 2018;7(0):1359. doi:10.12688/f1000research.15995.2
  114. Ripamonti D, Zazzi M. Rethinking recycling nucleoside reverse transcriptase inhibitors in HIV treatment. *AIDS.* 2018;32(7):835-840. doi:10.1097/QAD.0000000000001776
  115. Borghetti A, Lombardi F, Gagliardini R, et al. Efficacy and tolerability of lamivudine plus dolutegravir compared with lamivudine plus boosted PIs in HIV-1 positive individuals with virologic suppression: A retrospective study from the clinical practice. *BMC Infect Dis.* 2019;19(1):1-9. doi:10.1186/s12879-018-3666-8
  116. Hernandez MM, Fahrny A, Jayaprakash A, et al. Impact of Suboptimal APOBEC3G Neutralization on the Emergence of HIV Drug Resistance in Humanized Mice. *J Virol.* 2019;94(5):1-17. doi:10.1128/jvi.01543-19
  117. Mulder LCF, Harari A, Simon V. Cytidine deamination induced HIV-1 drug resistance. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008;105(14):5501-5506. doi:10.1073/pnas.0710190105
  118. Dauwe K, Staelens D, Vancoillie L, Mortier V, Verhofstede C. Deep Sequencing of HIV-1 RNA and DNA in Newly Diagnosed Patients with Baseline Drug Resistance Showed No Indications for Hidden Resistance and Is Biased by Strong

- Interference of Hypermutation. Caliendo AM, ed. *J Clin Microbiol.* 2016;54(6):1605-1615. doi:10.1128/JCM.00030-16
119. Esteban-Cantos A, Rodés B, Montejano R, et al. Impacto de la carga proviral en la detección de mutaciones archivadas M184V/I y/o K65R/E/N. Poster 186. In: *XI Congreso Nacional GeSIDA.* ; 2019.
  120. Hoffmann C, Llibre JM. Neuropsychiatric adverse events with dolutegravir and other integrase strand transfer inhibitors. *AIDS Rev.* 2019;21(1):4-10. doi:10.24875/AIDSRev.19000023
  121. Sax PE, Erlandson KM, Lake JE, et al. Weight Gain Following Initiation of Antiretroviral Therapy: Risk Factors in Randomized Comparative Clinical Trials. *Clin Infect Dis.* 2020;71(6):1379-1389. doi:10.1093/cid/ciz999
  122. Malet I, Arriaga LG, Artese A, et al. New raltegravir resistance pathways induce broad cross-resistance to all currently used integrase inhibitors. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(8):2118-2122. doi:10.1093/jac/dku095
  123. Oliveira M, Ibanescu R-I, Anstett K, et al. Selective resistance profiles emerging in patient-derived clinical isolates with cabotegravir, bictegravir, dolutegravir, and elvitegravir. *Retrovirology.* 2018;15(1):56. doi:10.1186/s12977-018-0440-3
  124. Rhee SY, Grant PM, Tzou PL, et al. A systematic review of the genetic mechanisms of dolutegravir resistance. *J Antimicrob Chemother.* 2019;74(11):3135-3149. doi:10.1093/jac/dkz256
  125. Rossetti B, Fabbiani M, Di Carlo D. Prevalence of InSTI resistance and effectiveness of InSTI-based regimens in HIV-infected patients: results from a European cohort study. Abstract PS5/5. In: *17th European AIDS Conference.* ; 2019.
  126. Casadellà M, Santos JR, Noguera-Julian M, et al. Primary resistance to integrase strand transfer inhibitors in Spain using ultrasensitive HIV-1 genotyping. *J Antimicrob Chemother.* September 2020:1-8. doi:10.1093/jac/dkaa349
  127. Gibson RM, Weber J, Winner D, Miller MD, Quiñones-Mateu ME. Contribution of human immunodeficiency virus type 1 minority variants to reduced drug susceptibility in patients on an integrase strand transfer inhibitor-based therapy. *PLoS One.* 2014;9(8). doi:10.1371/journal.pone.0104512
  128. Mazzuti L, Mezzaroma I, Falasca F, Turriziani O. Dolutegravir-based regimen maintains virological success in a patient with archived mutations to integrase inhibitors. *AIDS.* 2017;31(13):1900-1901. doi:10.1097/QAD.0000000000001581

129. Whitcomb JM, Parkin NT, Chappey C, Hellmann NS, Petropoulos CJ. Broad Nucleoside Reverse-Transcriptase Inhibitor Cross-Resistance in Human Immunodeficiency Virus Type 1 Clinical Isolates. *J Infect Dis.* 2003;188(7):992-1000. doi:10.1086/378281
130. Ávila-Ríos S, Parkin N, Swanstrom R, et al. Next-Generation Sequencing for HIV Drug Resistance Testing: Laboratory, Clinical, and Implementation Considerations. *Viruses.* 2020;12(6):617. doi:10.3390/v12060617
131. Casadellà M, Paredes R. Deep sequencing for HIV-1 clinical management. *Virus Res.* 2017;239:69-81. doi:10.1016/j.virusres.2016.10.019
132. Bonsall D, Golubchik T, de Cesare M, et al. A Comprehensive Genomics Solution for HIV Surveillance and Clinical Monitoring in Low-Income Settings. Caliendo AM, ed. *J Clin Microbiol.* 2020;58(10):1-13. doi:10.1128/JCM.00382-20
133. Lin L, Yue YS, Wang ND, et al. Whole blood as an alternative to peripheral blood mononuclear cell for detection of total HIV-1 DNA. *BMC Infect Dis.* 2020;20(1):1-6. doi:10.1186/s12879-020-05675-3

## 8. Índice de tablas

Tabla 1. Ensayos clínicos DTG+ 3TC como tratamiento de mantenimiento.....	8
Tabla 2. Procedimientos del estudio ART-PRO .....	45
Tabla 3. Características basales de los participantes .....	63
Tabla 4. Resultados de secuenciación basal de ADN proviral: genotipo poblacional y secuenciación masiva. ....	65
Tabla 5. Eficacia virológica en población ITT-e, semana 48 (algoritmo snapshot, FDA). ....	67
Tabla 6. Eficacia virológica en población ITT-e, semana 96 (algoritmo snapshot, FDA). ....	70
Tabla 7. Características de los participantes con repuntes virológicos transitorios a semana 48.....	76
Tabla 8. Eventos adversos relacionados con DTG+3TC a semana 48.....	79
Tabla 9. Eventos adversos relacionados con DTG+3TC a semana 96.....	80

## 9. Índice de figuras

Figura 1. Diseño estudio ART-PRO .....	44
Figura 2. Diagrama de flujo de participantes ART-PRO .....	60
Figura 3. Eficacia virológica en población ITT-e, semana 48 (algoritmo snapshot, FDA). ....	68
Figura 4. Eficacia virológica en población ITT-e, semana 96 (algoritmo snapshot, FDA). ....	71
Figura 5. Rebote virológico transitorio participante “I”, semana 36.....	77



## 10. Anexos

### 10.1. Documentos de autorización del estudio



#### DICTAMEN DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON MEDICAMENTOS

D. Jesús Frías Iniesta, Vicepresidente del COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN CON  
MEDICAMENTOS del Hospital Universitario La Paz

#### CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la siguiente propuesta de ensayo clínico:

CÓDIGO: **TAR-PRO** N° EUDRACT: **2017-000151-10** Código HULP: **4874**

TÍTULO: **“TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL GUIADO POR GENOTIPO  
PROVIRAL: ENSAYO CLÍNICO PILOTO DE PRUEBA DE CONCEPTO”**

PROMOTOR: Fundación Investigación Biomédica Hospital La Paz (FIBHULP)

PROTOCOLO: Versión 1.0 de 22 mayo 2017

HOJA DE INFORMACIÓN:

- Hoja Información al participante/Consentimiento Informado, Versión 1.1 de 15 junio 2017

Que este Comité ha realizado la evaluación de la parte I de la solicitud de autorización del ensayo y  
ha transmitido a la Agencia Española de Medicamentos su opinión final sobre la parte I.

Que este Comité ha realizado la evaluación de la parte II de la solicitud de autorización del ensayo,  
de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 1090/2015 y en el art. 7 del reglamento (UE) 536/2014  
y considera que:

- El procedimiento para obtener el consentimiento informado (incluyendo las hojas de información al sujeto de ensayo y consentimientos informados mencionados en el encabezamiento) y el plan de reclutamiento de sujetos previsto son adecuados y cumplen con los requisitos para la obtención del consentimiento informado previstos en el capítulo II del Real Decreto 1090/2015.
- Las compensaciones previstas a los participantes son adecuadas, así como las previsiones de indemnización por daños y perjuicios que pueda sufrir el participante.
- El procedimiento previsto para el manejo de datos personales es adecuado.
- El uso futuro de las muestras biológicas obtenidas durante el ensayo se adecua a lo previsto en el Real Decreto 1716/2011.
- Para la realización del ensayo se consideran adecuados los centros e investigadores previstos en el anexo II a este dictamen, teniendo en cuenta las declaraciones de idoneidad emitidas por el promotor y por los responsables de las instituciones correspondientes.

Que este Comité decidió emitir **DICTAMEN FAVORABLE** en la reunión celebrada el día  
**27/07/2017 (acta n° 14-2017)**

Que en dicha reunión se cumplieron los requisitos establecidos en la legislación vigente –Real Decreto  
1090/2015 – para que la decisión del citado CEIm sea válida.

## Anexo I

### COMPOSICION DEL CEIm

Presidenta	Dra. Almudena Castro Conde
Vicepresidente	Dr. Jesús Frías Iniesta
Representante de la Comisión de Investigación	
Secretario Técnico	Dra. Emma Fernández de Uzquiano
Responsable de la Secretaría Técnica	
Vocales	
Medicina Intensiva	Dr. José Manuel Añón Elizalde
Atención Primaria	Dr. Mario Arancón Monge
Medicina Interna	Dr. José Ignacio Bernardino
Análisis Clínicos	Dr. Antonio Buño Soto
Investigador IdiPAZ	Dra. Nora Butta
Pediatría	Dr. Fernando Cabañas Gómez
Abogado. Servicio de Asesoría Jurídica	Dr. Filiberto Chulia Fernández
Neumología	Dr. Jaime Fernández Bujarrabal
Anestesia	Dra. Elena García Higuera
Dermatología	Dr. Pedro Herranz Pinto
Medicina Interna	Dr. Carlos Lahoz Rallo
Miembro no sanitario ajeno a la Institución. Representante de los intereses de los pacientes	D. Evaristo Moliné Jorques
Medicina Preventiva	Dra. Verónica Pérez Blanco
Urología	Dra. M <sup>a</sup> Justa García-Matres Cortés
Representante del Comité de Ética Asistencial	
Oncología Médica	Dra. Nuria Rodríguez Salas
Gastroenterología	Dra. Miriam Romero Portales
Diplomada en Enfermería	D <sup>a</sup> . Filomena Trocoli
Ginecología	Dr. Ramón Usandizaga Elío
Farmacia Hospitalaria	Dra. Elena Villamañan Bueno
Psiquiatría	Dra. Rosa Villanueva

## Anexo II

CENTROS E INVESTIGADORES PRINCIPALES PARTICIPANTES EN ESPAÑA

CÓDIGO: **TAR-PRO**

Nº EUDRACT: **2017-000151-10**

Código HULP: **4874**

**TÍTULO: “TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL GUIADO POR GENOTIPO PROVIRAL: ENSAYO CLÍNICO PILOTO DE PRUEBA DE CONCEPTO”**

PROMOTOR: Fundación Investigación Biomédica Hospital La Paz (FIBHULP)

Centro de realización del estudio	Investigador principal
Hospital Universitario La Paz	Dr. José Ramón Arribas
Hospital 12 de Octubre	Dr. Federico Pulido

**Referencia:** MUH/CLINE/EC

**ASUNTO:** RESOLUCIÓN DE LA SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN DE UN ENSAYO CLÍNICO

**DESTINATARIO:** UCICEC  
Paseo de la Castellana, 261  
28046 Madrid (España)

**DATOS DE LA SOLICITUD**

Solicitud de autorización del Ensayo clínico N° EudraCT **2017-000151-10** y título **Tratamiento antirretroviral guiado por genotipo proviral: ensayo clínico piloto de prueba de concepto.**

**Promotor:** Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz  
Paseo de la Castellana 261, Hospital Universitario La Paz. edificio  
Maternidad, 2ª planta. UCICEC  
28046 Madrid (España)

**Fecha de solicitud válida:** 09/06/2017

Una vez evaluada la solicitud de autorización de ensayo clínico previamente indicada, se considera que cumple con los requisitos indicados en el Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos y demás legislación aplicable\*.

Por todo lo anteriormente expuesto la Directora de la Agencia de Medicamentos y Productos Sanitarios en el ejercicio de sus competencias **RESUELVE:**

**AUTORIZAR** el ensayo clínico solicitado.

Contra esta Resolución, que pone fin a la vía administrativa, puede interponerse potestativamente Recurso de Reposición ante el/la Director/a de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en el plazo de un mes, conforme a lo dispuesto en los artículos 123 y 124 de la Ley

\* Texto refundido de la Ley de Garantías y Uso Racional de los medicamentos y productos sanitarios, aprobado por Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio.  
Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por el que se crea la Agencia estatal "Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios y se aprueba su Estatuto".

Firmado digitalmente por: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios  
Fecha de la firma: 02/08/2017

Localizador: C86AEK715E

Puede comprobar la autenticidad del documento en la aplicación Localizador de la Web de la AEMPS

CORREO ELECTRÓNICO  
smhaem@aemps.es

Página 1 de 2

C/ CAMPEZO, 1 - EDIFICIO 8  
28022 MADRID  
Tel.: 918225073  
Fax: 918225043

## 10.2. Consentimiento informado y hoja de información al paciente

PROTOCOLO: TAR-PRO  
PROMOTOR: FIBHULP

CÓDIGO EUDRA-CT: 2017-000151-10  
VERSIÓN: 1.1 de 15 de junio de 2017

### **HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE**

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Tratamiento antirretroviral guiado por genotipo proviral: ensayo clínico piloto de prueba de concepto

**CÓDIGO DEL PROMOTOR:** TAR-PRO

**VERSIÓN:** 1.1 de 15 de junio de 2017

**CÓDIGO EUDRA-CT:** 2017-000151-10

**PROMOTOR:** Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz (FIBHULP)

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Dr. José Ramón Arribas López. Tfno: 917277099. Centro: Consulta de Medicina Interna 2. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario La Paz. IdiPAZ

---

Le invitamos a participar en un ensayo clínico titulado "Tratamiento antirretroviral guiado por genotipo proviral: ensayo clínico piloto de prueba de concepto" que se llevará a cabo en los Hospitales Universitarios La Paz y 12 de Octubre de Madrid. Este estudio de investigación ha sido revisado por el correspondiente Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de acuerdo a la legislación vigente y ha recibido un dictamen favorable de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios con arreglo a lo establecido en el Real Decreto 1090/2015. Se trata de un estudio continuación de un estudio previo en el que usted participó ("Determinación de frecuencias de mutaciones en genotipo proviral").

Nuestra intención es que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este ensayo clínico. Para ello lea esta hoja informativa con atención. Tendrá la oportunidad de hablar con el investigador para aclarar todas sus dudas y si decide no participar en el estudio, esto no afectará de ninguna manera a la calidad de sus cuidados médicos futuros. Sin embargo, si decide participar, le rogamos que cumpla dentro de lo posible las instrucciones recibidas.

#### **Objetivos del estudio**

Gracias a los tratamientos antirretrovirales, actualmente la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) se ha convertido en una enfermedad crónica. En los últimos años se han comercializado nuevos fármacos con una alta eficacia y buena tolerancia, lo cual permite alcanzar el objetivo establecido en las guías clínicas (carga viral indetectable) incluso en pacientes con fracaso virológico.

Se define fracaso virológico a la situación en la que la carga viral (la cantidad de virus presente en la sangre) es superior a 50 copias/mL cuando previamente estaba indetectable (< 50 copias/mL) a pesar de estar en tratamiento. Esta

situación se produce cuando no existe suficiente cantidad de fármaco en el organismo (generalmente a causa de un mal cumplimiento terapéutico) como para suprimir la producción de nuevos virus. En esta situación pueden aparecer mutaciones (cambio en los genes del virus) de resistencia que hagan que determinados fármacos dejen de ser activos frente al virus. Estas mutaciones de resistencia pueden detectarse en el ARN viral (genes del virus) circulante en sangre mediante un análisis de sangre (Test de resistencias) que se realiza cuando se tiene carga viral positiva en sangre.

Cuando una persona fracasa al tratamiento antiretroviral y desarrolla mutaciones de resistencia, es imprescindible cambiar el tratamiento por otros fármacos que sean activos frente al virus. En la mayoría de estas situaciones estos regímenes de rescate, generalmente basados en los fármacos llamados inhibidores de la proteasa, suelen tener mayor número de pastillas y ser algo más complejos que el tratamiento precedente.

Se denomina reservorio celular a los genes del virus que están integrados en el ADN de nuestras células de la sangre (nuestros genes). Con el desarrollo de una nueva prueba de laboratorio pueden obtenerse muestras del material genético del virus integrado en nuestros genes para estudiar las mutaciones existentes en él incluso cuando la carga viral es indetectable (< 50 copias/ml de sangre).

Se desconoce si, una vez que se han desarrollado mutaciones de resistencias, éstas permanecen almacenadas para siempre en el reservorio celular y en cantidad suficiente como para hacer imposible volver a utilizar los fármacos que motivaron dicho fracaso. Las diferentes mutaciones que puedan haber aparecido a lo largo de la evolución de la enfermedad se acumulan en el reservorio celular en forma de ADN proviral.

Le invitamos a participar en este ensayo porque usted tuvo una pérdida de eficacia de su tratamiento antirretroviral con aparición de mutaciones de resistencia que motivó un cambio de tratamiento o porque en algún momento ha recibido (o recibe en la actualidad) un tratamiento que incluye emtricitabina (como Emtriva®, Truvada®, Atripla® o Eviplera®) o lamivudina (como EpiVir®, Combivir®, Trizivir® o Kivexa®) y le gustaría cambiar de régimen terapéutico por intolerancia o simplificación. Usted participó en un estudio que ha demostrado que no tienen mutaciones de resistencia en los genes del virus integrados en el ADN de las células de su sangre. Al no tener resistencias un tratamiento simple con Dolutegravir (Tivicay®) y Lamivudina podría ser eficaz.

Con el presente ensayo pretendemos explorar la posibilidad de que en pacientes con carga viral indetectable de forma prolongada la presencia de determinadas mutaciones de resistencia en el reservorio celular sea lo suficientemente escasa

como para permitir volver a utilizar de forma segura tratamientos previos (Lamivudina) incluso si el virus se hizo resistente a ellos con anterioridad.

### **Criterios de inclusión y exclusión**

Debe tener más de 18 años y estar tomando un tratamiento antirretroviral estable que incluya o hay incluido lamivudina (como Epivir®, Combivir®, Trizivir® o Kivexa®) o emcitabina (como Emtriva®, Truvada®, Atripla® o Eviplera®). Se tienen que demostrar que su carga viral está indetectable ( $< 50$  copias/mL) durante al menos un año y que su nivel de CD4 (defensas) sea superior a 350 cel/ $\mu$ L. Además el resultado de la detección de mutaciones de resistencia en ADN de las células de su sangre tiene que ser negativo

Si usted está embarazada o dando lactancia materna no podrá participar. Así mismo si es una mujer en edad fértil se tiene que comprometer a utilizar un método anticonceptivo adecuado durante toda la duración del estudio. El médico del estudio le dirá si cumple o no los criterios para participar.

### **Realización del estudio**

En este estudio participan los Servicios de Medicina Interna del Hospital la Paz y 12 de Octubre, en las consultas y por los médicos que realizan el seguimiento de su infección habitualmente.

Si usted decide participar, los datos clínicos derivados de su seguimiento habitual se almacenarán en una base de datos codificada.

En la visita inicial se le cambiará el tratamiento y empezará a tomar un comprimido de Tivicay® y un comprimido de Lamivudina (o Epivir®) una vez al día.

Se le pedirá que vuelva a la consulta hasta en 6 ocasiones durante un año (visita inicial, semana 4, semana 12, semana 24, semana 36 y semana 48). En cada una de estas visitas se realizarán los procedimientos de seguimiento habituales: evaluación médica detallada, exploración física, constantes vitales y extracción de sangre para los análisis habituales, recuento de CD4 y carga viral. En cada visita, con excepción de la última visita, el volumen de sangre de la extracción será de 25 mL de sangre, mientras que en la última visita el volumen de la extracción será de 50 mL para cuantificar ADN viral integrado y determinación de resistencias integradas en ADN integrado.

Debe saber que su participación en este proyecto es totalmente voluntaria y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que precise y la

relación con el Equipo Médico que le atiende no va a verse afectada. Usted puede cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento.

#### **Tratamiento del estudio**

Si los resultados de los procedimientos iniciales del estudio indican que puede participar y usted acepta participar se le cambiará el tratamiento antirretroviral que usted está tomando por 1 comprimido de Tivicay® 50 mg y 1 comprimido de lamivudina (o Epivir®) 300 mg una vez al día. Puede que usted haya tomado lamivudina (o Epivir®) en el pasado o como componente de otros fármacos.

Lamivudina (también comercializado como Epivir®) está indicado en el tratamiento antirretroviral combinado para el tratamiento de adultos y niños infectados por el VIH. No está recomendado su uso con antecedentes de fallo virológico previo o con mutaciones de resistencia si no va acompañado de otros fármacos completamente activos.

Los efectos adversos más frecuentes comunicados hasta la fecha relacionados con Lamivudina son: dolor de cabeza, insomnio y trastornos gastrointestinales como náuseas, vómitos, dolor o calambres abdominales y diarrea. También son frecuentes la presencia de síntomas generales como fatiga, malestar general, fiebre.

Tivicay® está indicado en combinación con otros medicamentos antirretrovirales para el tratamiento de adultos y adolescentes mayores de 12 años infectados por VIH.

Los efectos adversos más frecuentes comunicados hasta la fecha relacionados con Tivicay® son: dolor de cabeza y trastornos gastrointestinales como diarrea, náuseas y vómitos. También puede ocasionar mareo, insomnio o sueños anormales.

#### **Posibles Riesgos y Molestias de la participación del estudio**

El cambio de tratamiento a este nuevo régimen se realiza fuera de las condiciones de uso aprobadas del fármaco. Es decir usted va a tomar el fármaco cuando puede tener mutaciones de resistencias al mismo en su historial. Podría ocurrir que al cambiar el tratamiento su carga viral dejase de estar indetectable, en cuyo caso su equipo médico volverá al tratamiento que tenía antes de empezar el estudio y además en caso de fracaso obtendremos una muestra para el estudio de resistencias

La toma de muestras de sangre puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y le puede ocasionar un pequeño



hematoma o una leve infección, que desaparecen en pocos días. Más raramente mareo en el momento de la extracción de sangre.

#### **Posibles beneficios**

No va a tener ningún beneficio inmediato por participar en este estudio. El único beneficio esperable es el de pasar a un esquema de tratamiento más simplificado.

#### **Participación voluntaria**

Recuerde que puede retirarse del estudio en cualquier momento sin tener que ofrecer explicación alguna sobre sus razones para hacerlo, aunque se ruega encarecidamente que exponga cualquier problema que surja a lo largo del estudio. El abandono del estudio no condicionara en absoluto los cuidados médicos que precise en el futuro.

El médico del estudio también podrá dar por terminada su participación, sin su consentimiento por cualquiera de las siguientes razones: a) el médico del estudio cree que es lo mejor para usted, b) usted necesita otra medicación para controlar su infección por VIH, c) no ha seguido los procedimientos del estudio. Se le dará una explicación razonada de la decisión de retirada.

#### **DESTINO DE SUS MUESTRAS**

Sus muestras se guardarán hasta su análisis en los servicio de microbiología de ambos hospitales. Dichas muestras se guardarán unidas a un código y nadie, salvo su propio médico, podrá asociar la muestra con su identidad. Es decir, las personas encargadas de analizar su muestra no sabrán a qué paciente corresponde. De este modo se garantiza la confidencialidad de las muestras. Posteriormente, se mantendrán en Biobanco del Hospital La Paz durante un tiempo (5 años) indicando que se usarían por si se validaran los objetivos del estudio utilizando otras técnicas de laboratorio que pudieran estar disponibles en un futuro cercano, y pasado ese tiempo se destruirían.

#### **Confidencialidad de los registros médicos y del estudio**

Se le pedirá que acepte que sus datos clínicos, necesarios para la realización del estudio, sean introducidos en una base de datos con la finalidad de realizar el procesamiento y tratamiento final de los mismos que permita establecer conclusiones sobre los objetivos del proyecto de investigación. Estos datos estarán codificados en la base de datos del estudio.

Toda la información relacionada con el estudio es estrictamente confidencial según la L.O.P.D. 15/1999 de 13 de Diciembre y usted tendrá el derecho de acceso, rectificación, cancelación y oposición de sus datos personales transcurrido un periodo mínimo establecido en la normativa actual.

Representantes del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital y de las Autoridades Sanitarias Españolas podrán tener acceso a sus registros médicos con el fin de controlar y garantizar la correcta realización del estudio. Los resultados del estudio podrán ser comunicados en reuniones científicas, Congresos Médicos o publicaciones científicas, sin embargo se mantendrá una estricta confidencialidad sobre la identidad de los pacientes.

El promotor del estudio dispone de una póliza de seguros con la aseguradora HDI que se ajusta a la legislación vigente (Real Decreto 1090/2015) y que les proporcionará la compensación e indemnización en caso de menoscabo de su salud o de lesiones que pudieran producirse en relación con su participación en el estudio, siempre que no sean consecuencia de la propia enfermedad que se estudia o de la evolución de la propia enfermedad como consecuencia de la ineficacia del tratamiento.

Si desea más información relativa a este apartado, consulte con el investigador principal del estudio en su centro. Le informamos que es posible que su participación en este ensayo clínico pueda modificar las condiciones generales y particulares (cobertura) de sus pólizas de seguro (vida, salud, accidente...). Por ello le recomendamos que se ponga en contacto con su aseguradora para determinar si la participación en este estudio afectará a su póliza de seguros. .

Si Ud precisa mayor información sobre este estudio podrá contactar con el Investigador principal, el Dr. Arribas del Servicio de Medicina Interna en el teléfono 91 727 70 99.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO**

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Tratamiento antirretroviral guiado por genotipo proviral: ensayo clínico piloto de prueba de concepto

**CÓDIGO DEL PROMOTOR:** TAR-PRO

**VERSIÓN:** 1.1 de 15 de junio de 2017

**CÓDIGO EUDRA-CT:** 2017-000151-10

**PROMOTOR:** Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz (FIBHULP)

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Dr. José Ramón Arribas López. Tfno: 917277099. Centro: Consulta de Medicina Interna 2. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario La Paz. IdiPAZ.

Yo, [nombre y apellidos] \_\_\_\_\_

Declaro que:

1. He leído la Hoja de Información que me ha sido entregada.
2. He podido hacer preguntas sobre el estudio, así como sobre la cesión de datos clínicos.
3. He hablado y he aclarado las dudas con el Dr. [ nombre y apellidos ] \_\_\_\_\_

4. Entiendo que mi participación es voluntaria.

5. Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que ofrecer explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos futuros.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Nombre del participante:

Nombre del médico:

Firma del participante:

Firma del médico:

Fecha:

Fecha:

### **HOJA DE INFORMACIÓN AL PARTICIPANTE**

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Tratamiento antirretroviral guiado por genotipo proviral: ensayo clínico piloto de prueba de concepto

**CÓDIGO DEL PROMOTOR:** TAR-PRO

**VERSIÓN:** 3.0 de 1 de Octubre de 2018

**CÓDIGO EUDRA-CT:** 2017-000151-10

**PROMOTOR:** Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz (FIBHULP)

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Dr. José Ramón Arribas López. Tfno: 917277099. Centro: Consulta de Medicina Interna 2. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario La Paz. IdiPAZ

---

Le invitamos continuar participando en el ensayo clínico titulado "Tratamiento antirretroviral guiado por genotipo proviral: ensayo clínico piloto de prueba de concepto" que se está llevando a cabo en los Hospitales Universitarios La Paz y 12 de Octubre de Madrid. Este estudio de investigación ha sido revisado por el correspondiente Comité de Ética de la Investigación con medicamentos de acuerdo a la legislación vigente y ha recibido un dictamen favorable de la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios con arreglo a lo establecido en el Real Decreto 1090/2015. Se trata de la continuación al estudio "Tratamiento antirretroviral guiado por genotipo proviral: ensayo clínico piloto de prueba de concepto.

Nuestra intención es que usted reciba la información correcta y suficiente para que pueda evaluar y juzgar si quiere o no participar en este ensayo clínico. Para ello lea esta hoja informativa con atención. Tendrá la oportunidad de hablar con el investigador para aclarar todas sus dudas y si decide no participar en el estudio, esto no afectará de ninguna manera a la calidad de sus cuidados médicos futuros. Sin embargo, si decide participar, le rogamos que cumpla dentro de lo posible las instrucciones recibidas.

#### **Objetivos del estudio**

Gracias a los tratamientos antirretrovirales, actualmente la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) se ha convertido en una enfermedad crónica. En los últimos años se han comercializado nuevos fármacos con una alta eficacia y buena tolerancia, lo cual permite alcanzar el objetivo establecido en las guías clínicas (carga viral indetectable) incluso en pacientes con fracaso virológico.

Se define fracaso virológico a la situación en la que la carga viral (la cantidad de virus presente en la sangre) es superior a 50 copias/mL cuando previamente estaba indetectable (< 50 copias/mL) a pesar de estar en tratamiento. Esta situación se produce cuando no existe suficiente cantidad de fármaco en el organismo (generalmente a causa de un mal cumplimiento terapéutico) como para suprimir la producción de nuevos virus. En esta situación pueden aparecer mutaciones (cambio en los genes del virus) de resistencia que hagan que determinados fármacos dejen de ser activos frente al virus. Estas mutaciones de resistencia pueden detectarse en el ARN viral (genes del virus) circulante en sangre mediante un análisis de sangre (Test de resistencias) que se realiza cuando se tiene carga viral positiva en sangre.

Cuando una persona fracasa al tratamiento antiretroviral y desarrolla mutaciones de resistencia, es imprescindible cambiar el tratamiento por otros fármacos que sean activos frente al virus. En la mayoría de estas situaciones estos regímenes de rescate, generalmente basados en los fármacos llamados inhibidores de la proteasa, suelen tener mayor número de pastillas y ser algo más complejos que el tratamiento precedente.

Se denomina reservorio celular a los genes del virus que están integrados en el ADN de nuestras células de la sangre (nuestros genes). Con el desarrollo de una nueva prueba de laboratorio pueden obtenerse muestras del material genético del virus integrado en nuestros genes para estudiar las mutaciones existentes en él incluso cuando la carga viral es indetectable (< 50 copias/ml de sangre).

Se desconoce si, una vez que se han desarrollado mutaciones de resistencias, éstas permanecen almacenadas para siempre en el reservorio celular y en cantidad suficiente como para hacer imposible volver a utilizar los fármacos que motivaron dicho fracaso. Las diferentes mutaciones que puedan haber aparecido a lo largo de la evolución de la enfermedad se acumulan en el reservorio celular en forma de ADN proviral.

Le invitamos a participar en este ensayo porque usted tuvo una pérdida de eficacia de su tratamiento antirretroviral con aparición de mutaciones de resistencia que motivó un cambio de tratamiento o porque en algún momento ha recibido (o recibe en la actualidad) un tratamiento que incluye emtricitabina (como Emtriva®, Truvada®, Atripla® o Eviplera®) o lamivudina (como Epivir®, Combivir®, Trizivir® o Kivexa®) y le gustaría cambiar de régimen terapéutico por intolerancia o simplificación. Además usted participó en un estudio previamente ("Determinación de frecuencias de mutaciones en genotipo proviral") que ha demostrado que no tiene mutaciones de resistencia en ADN de las células de su sangre. Al no tener resistencias un tratamiento simple con Dolutegravir (Tivicay®) y Lamivudina podría ser eficaz.

Con el presente ensayo pretendemos explorar la posibilidad de que en pacientes con carga viral indetectable de forma prolongada la presencia de determinadas mutaciones de resistencia en el reservorio celular sea lo suficientemente escasa como para permitir volver a utilizar de forma segura tratamientos previos (Lamivudina) incluso si el virus se hizo resistente a ellos con anterioridad.

### **Criterios de inclusión y exclusión**

Debe tener más de 18 años y estar tomando un tratamiento antirretroviral estable que incluya o hay incluido lamivudina (como Epivir®, Combivir®, Trizivir® o Kivexa®) o emcitabina (como Emtriva®, Truvada®, Atripla® o Eviplera®). Se tienen que demostrar que su carga viral está indetectable (< 50copias/mL) durante al menos un año y que su nivel de CD4 (defensas) sea superior a 350 cel/μL. Además el resultado de la detección de mutaciones de resistencia en ADN de las células de su sangre tiene que ser negativo

Si usted está embarazada o dando lactancia materna no podrá participar. Así mismo si es una mujer en edad fértil se tiene que comprometer a utilizar un método anticonceptivo adecuado durante toda la duración del estudio. El médico del estudio le dirá si cumple o no los criterios para participar.

### **Realización del estudio**

En este estudio participan los Servicios de Medicina Interna del Hospital la Paz y 12 de Octubre, en las consultas y por los médicos que realizan el seguimiento de su infección habitualmente.

Si usted decide participar, los datos clínicos derivados de su seguimiento habitual se almacenarán en una base de datos codificada.

En la visita inicial se le cambiará el tratamiento y empezará a tomar un comprimido de Tivicay® y un comprimido de Lamivudina (o Epivir®) una vez al día.

Se le pedirá que vuelva a la consulta hasta en 12 ocasiones durante tres años (visita inicial, semana 4, semana 12, semana 24, semana 36, semana 48, semana 64, semana 80, semana 96, semana 112, semana 128 y semana 144). En cada una de estas visitas se realizarán los procedimientos de seguimiento habituales: evaluación médica detallada, exploración física, constantes vitales y extracción de sangre para los análisis habituales, recuento de CD4 y carga viral. En cada visita, con excepción de la visita en la semana 48 y semana 144, el volumen de sangre de la extracción será de 25 mL de sangre, mientras que en la semana 48 y semana 144 el volumen de la extracción será de 50 mL para cuantificar ADN viral integrado y determinación de resistencias integradas en ADN integrado.

Debe saber que su participación en este proyecto es totalmente voluntaria y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que precise y la relación con el Equipo Médico que le atiende no va a verse afectada. Usted puede cambiar su decisión y retirar el consentimiento en cualquier momento.

#### **Tratamiento del estudio**

Si los resultados de los procedimientos iniciales del estudio indican que puede participar y usted acepta participar se le cambiará el tratamiento antirretroviral que usted está tomando por 1 comprimido de Tivicay® 50 mg y 1 comprimido de lamivudina (o Epivir®) 300 mg una vez al día. Puede que usted haya tomado lamivudina (o Epivir®) en el pasado o como componente de otros fármacos.

Lamivudina (también comercializado como Epivir®) está indicado en el tratamiento antirretroviral combinado para el tratamiento de adultos y niños infectados por el VIH. No está recomendado su uso con antecedentes de fallo virológico previo o con mutaciones de resistencia si no va acompañado de otros fármacos completamente activos.

Los efectos adversos más frecuentes comunicados hasta la fecha relacionados con Lamivudina son: dolor de cabeza, insomnio y trastornos gastrointestinales como náuseas, vómitos, dolor o calambres abdominales y diarrea. También son frecuentes la presencia de síntomas generales como fatiga, malestar general, fiebre.

Tivicay® está indicado en combinación con otros medicamentos antirretrovirales para el tratamiento de adultos y adolescentes mayores de 12 años infectados por VIH.

Los efectos adversos más frecuentes comunicados hasta la fecha relacionados con Tivicay® son: dolor de cabeza y trastornos gastrointestinales como diarrea, náuseas y vómitos. También puede ocasionar mareo, insomnio o sueños anormales. Resultados preliminares de un estudio observacional muestran un incremento de riesgo de defectos de tubo neural en niños nacidos de madres expuestas a DTG en el momento de la concepción.

#### **Posibles Riesgos y Molestias de la participación del estudio**

El cambio de tratamiento a este nuevo régimen se realiza fuera de las condiciones de uso aprobadas del fármaco. Es decir usted va a tomar el fármaco cuando puede tener mutaciones de resistencias al mismo en su historial. Podría ocurrir que al cambiar el tratamiento su carga viral dejase de estar indetectable, en cuyo caso su equipo médico volverá al tratamiento que tenía antes de empezar el estudio.

La toma de muestras de sangre puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y le puede ocasionar un pequeño hematoma o una leve infección, que desaparecen en pocos días. Más raramente mareo en el momento de la extracción de sangre.

#### **Posibles beneficios**

No va a tener ningún beneficio inmediato por participar en este estudio. El único beneficio esperable es el de pasar a un tratamiento para su infección de VIH que presenta mejor tolerancia y menor toxicidad.

#### **Participación voluntaria**

Recuerde que puede retirarse del estudio en cualquier momento sin tener que ofrecer explicación alguna sobre sus razones para hacerlo, aunque se ruega encarecidamente que exponga cualquier problema que surja a lo largo del estudio. El abandono del estudio no condicionara en absoluto los cuidados médicos que precise en el futuro.

El médico del estudio también podrá dar por terminada su participación, sin su consentimiento por cualquiera de las siguientes razones: a) el médico del estudio cree que es lo mejor para usted, b) usted necesita otra medicación para controlar su infección por VIH, c) no ha seguido los procedimientos del estudio. Se le dará una explicación razonada de la decisión de retirada.

#### **Confidencialidad de los registros médicos y del estudio**

Se le pedirá que acepte que sus datos clínicos, necesarios para la realización del estudio, sean introducidos en una base de datos con la finalidad de realizar el procesamiento y tratamiento final de los mismos que permita establecer conclusiones sobre los objetivos del proyecto de investigación. Estos datos estarán codificados en la base de datos del estudio.

El tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de todos los pacientes participantes se ajustará a lo dispuesto en el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD).

Tanto el Centro como el Promotor son responsables respectivamente del tratamiento de sus datos y se comprometen a cumplir con la normativa de protección de datos en vigor. Los Comités de Ética de la Investigación, los representantes de la Autoridad Sanitaria en materia de inspección y el personal autorizado por el Promotor, únicamente podrán acceder para comprobar los datos personales, los procedimientos del estudio clínico y el cumplimiento de las normas de buena práctica clínica (siempre manteniendo la confidencialidad de la información).



-De acuerdo con lo que establece la legislación mencionada, usted puede ejercer los derechos de acceso, rectificación, oposición y supresión de sus datos, para lo cual deberá dirigirse a su médico del estudio. Además de los derechos que ya conoce (acceso, modificación, oposición y cancelación de datos) ahora también puede limitar el tratamiento de datos que sean incorrectos, solicitar una copia o que se trasladen a un tercero (portabilidad) los datos que usted ha facilitado para el estudio. Para ejercitar sus derechos, diríjase al investigador principal del estudio el/la Dr. Dra. o al Delegado de Protección de datos del centro "Comité DPD de la Consejería de Sanidad de la Comunidad de Madrid" con dirección en Plaza Carlos Trías Bertrán nº7 (Edif. Sollube) Madrid 28020; [protecciondedatos.sanidad@madrid.org](mailto:protecciondedatos.sanidad@madrid.org).

Le recordamos que los datos no se pueden eliminar aunque deje de participar en el ensayo para garantizar la validez de la investigación y cumplir con los deberes legales y los requisitos de autorización de medicamentos. Así mismo tiene derecho a dirigirse a la Agencia de Protección de Datos si no quedara satisfecho

-Tanto el Centro como el Promotor son responsables respectivamente del tratamiento de sus datos y se comprometen a cumplir con la normativa de protección de datos en vigor. Los datos recogidos para el estudio estarán identificados mediante un código, de manera que no se incluya información que pueda identificarle, y sólo su médico del estudio/colaboradores podrá relacionar dichos datos con usted y con su historia clínica. Por lo tanto, su identidad no será revelada a ninguna otra persona salvo a las autoridades sanitarias, cuando así lo requieran o en casos de urgencia médica. Los Comités de Ética de la Investigación, los representantes de la Autoridad Sanitaria en materia de inspección y el personal autorizado por el Promotor, únicamente podrán acceder para comprobar los datos personales, los procedimientos del estudio clínico y el cumplimiento de las normas de buena práctica clínica (siempre manteniendo la confidencialidad de la información).

-El Investigador y el Promotor están obligados a conservar los datos recogidos para el estudio al menos hasta 25 años tras su finalización. Posteriormente, su información personal solo se conservará por el centro para el cuidado de su salud y por el promotor para otros fines de investigación científica si usted hubiera otorgado su consentimiento para ello, y si así lo permite la ley y requisitos éticos aplicables.

-Si realizáramos transferencia de sus datos codificados fuera de la UE a las entidades de nuestro grupo, a prestadores de servicios o a investigadores científicos que colaboren con nosotros, los datos del participante quedarán protegidos con salvaguardas tales como contratos u otros mecanismos por las autoridades de protección de datos. Si el participante quiere saber más al respecto, puede contactar al/a la Delegado/a de Protección de Datos del promotor o la institución. Alaro Avant, S.L. Avda. de Brasil 17, 7G, 28020, Madrid [dpo.fiblapaz@alaroavant.com](mailto:dpo.fiblapaz@alaroavant.com); 911123962

Seguro

Se ha contratado una póliza de seguros de acuerdo con el Real Decreto 1090/2015 del 04 de Diciembre que cubrirá los costes del tratamiento médico por lesiones o enfermedad causadas por el fármaco del estudio o cualquiera de los procedimientos del estudio.

El médico del estudio tiene una copia del certificado de seguros del promotor que puede leer si lo solicita. El compromiso del promotor de reembolsar los gastos de la atención médica por lesiones relacionadas con el estudio no se aplicará a la atención médica rutinaria de su enfermedad subyacente o de cualquier otra lesión o enfermedad que no se deba al fármaco del estudio o a los procedimientos del mismo realizados adecuadamente para el estudio por el médico del estudio.

Si Ud precisa mayor información sobre este estudio podrá contactar con el Investigador principal, el Dr. Arribas del Servicio de Medicina Interna en el teléfono 91 727 70 99.

**CONSENTIMIENTO INFORMADO POR ESCRITO**

**TÍTULO DEL ESTUDIO:** Tratamiento antirretroviral guiado por genotipo proviral: ensayo clínico piloto de prueba de concepto

**CÓDIGO DEL PROMOTOR:** TAR-PRO

**VERSIÓN:** 3.0 de 1 de Octubre de 2018

**CÓDIGO EUDRA-CT:** 2017-000151-10

**PROMOTOR:** Fundación para la Investigación Biomédica del Hospital Universitario La Paz (FIBHULP)

**INVESTIGADOR PRINCIPAL:** Dr. José Ramón Arribas López. Tfno: 917277099. Centro: Consulta de Medicina Interna 2. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario La Paz. IdiPAZ.

Yo, [nombre y apellidos] \_\_\_\_\_

Declaro que:

1. He leído la Hoja de Información que me ha sido entregada.
2. He podido hacer preguntas sobre el estudio, así como sobre la cesión de datos clínicos.
3. He hablado y he aclarado las dudas con el Dr. [ nombre y apellidos ]

4. Entiendo que mi participación es voluntaria.

5. Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que ofrecer explicaciones y sin que esto repercuta en mis cuidados médicos futuros.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y doy mi consentimiento para el acceso y utilización de mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información.

Nombre del participante:

Nombre del médico:

Firma del participante:

Firma del médico:

Fecha:

Fecha:

### 10.3. Listado de colaboradores

Grupo de estudio ART-PRO, PI16/00837-PI16/00678:

- *Hospital Universitario La Paz - IdiPAZ, Madrid, España:* J.R. Arribas (investigador principal), R. De Miguel Buckley, R. Montejano, A. Esteban-Cantos, N. Stella-Ascariz, J. Cadiñanos, M. Mayoral, J.M. Castro, V. Moreno, L. Martín-Carbonero, E. Valencia, I. Bernardino, C. Busca, R. Micán, J. Cadiñanos, I. Pérez-Valero, J. González, M.L. Montes, J. Rodríguez Centeno.
- *Hospital Universitario 12 de Octubre - Imas12, Madrid, España:* F. Pulido (investigador principal), D. Rial-Crestelo, L. Domínguez-Domínguez, P. Aranguren-Rivas, O. Bisbal, L. Bermejo Plaza, M. García-Álvarez, M. Santacreu-Guerrero, M. de Lagarde, M. Matarranz, J. Luzckoviak, A. Sotillo, R. Delgado, R. Rubio.
- *Instituto de Salud Carlos III, Madrid, España:* B. Alejos.
- *Universidad Europea de Madrid- Imas12, Madrid, España:* A. Hernando.

## 10.4. Publicaciones

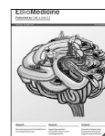
EBioMedicine 55 (2020) 102779



Contents lists available at ScienceDirect

EBioMedicine

journal homepage: [www.elsevier.com/locate/ebiom](http://www.elsevier.com/locate/ebiom)



Research paper

### Dolutegravir plus lamivudine for maintenance of HIV viral suppression in adults with and without historical resistance to lamivudine: 48-week results of a non-randomized, pilot clinical trial (ART-PRO)



Rosa De Miguel<sup>a, #</sup>, David Rial-Crestelo<sup>b, #</sup>, Lourdes Dominguez-Dominguez<sup>b</sup>, Rocío Montejano<sup>a</sup>, Andrés Esteban-Cantos<sup>a</sup>, Paula Aranguren-Rivas<sup>b</sup>, Natalia Stella-Ascariz<sup>a</sup>, Otilia Bisbal<sup>b</sup>, Laura Bermejo-Plaza<sup>b</sup>, Mónica García-Alvarez<sup>b</sup>, Belén Alejos<sup>c</sup>, Asunción Hernando<sup>d</sup>, Mireia Santacreu-Guerrero<sup>b</sup>, Julen Cadinanos<sup>a</sup>, Mario Mayoral<sup>a</sup>, Juan Miguel Castro<sup>a</sup>, Victoria Moreno<sup>a</sup>, Luz Martín-Carbonero<sup>a</sup>, Rafael Delgado<sup>b</sup>, Rafael Rubio<sup>b</sup>, Federico Pulido<sup>b, \*, ##</sup>, José Ramón Arribas<sup>a, \*, ##</sup>, ART-PRO, P116/00837-P116/00678 study group

<sup>a</sup> Hospital Universitario La Paz – IdiPAZ, Paseo de la Castellana 261, 28046, Madrid, Spain

<sup>b</sup> Hospital Universitario 12 de Octubre – Imas12, Av. de Córdoba, s/n, 28041, Madrid, Spain

<sup>c</sup> Instituto de Salud Carlos III, Av. de Monforte de Lemos, 5, 28029, Madrid, Spain

<sup>d</sup> Universidad Europea de Madrid – Imas12, Calle Tajo, s/n, 28670 Villaviciosa de Odón, Madrid, Spain

#### ARTICLE INFO

##### Article History:

Received 21 February 2020

Revised 11 April 2020

Accepted 20 April 2020

Available online xxx

#### ABSTRACT

**Background:** We investigated the efficacy of a switch to dolutegravir plus lamivudine in aviremic individuals without evidence of persistent lamivudine resistance-associated mutations in baseline proviral DNA population sequencing.

**Methods:** Open-label, single-arm, 48-week pilot trial. HIV-1 infected adults, naïve to integrase inhibitors, with CD4+ above 350 cells/ $\mu$ L and fewer than 50 HIV-1 RNA copies per mL the year prior to study entry switched to dolutegravir plus lamivudine. Participants were excluded if baseline proviral DNA population genotyping detected lamivudine resistance-associated mutations. To detect resistance minority variants, proviral DNA next-generation sequencing was retrospectively performed from baseline samples. Primary efficacy endpoint was proportion of participants with fewer than 50 HIV-1 RNA copies per mL at week 48. Safety and tolerability outcomes were incidence of adverse events and treatment discontinuations. ART-PRO is registered with ClinicalTrials.gov, NCT03539224.

**Findings:** 41 participants switched to dolutegravir plus lamivudine, 21 with lamivudine resistance mutations in historical plasma genotypes. Baseline next-generation sequencing detected lamivudine resistance mutations (M184V/I and/or K65R/E/N) over a 5% threshold in 15/21 (71.4%) and 3/20 (15%) of participants with and without history of lamivudine resistance, respectively. At week 48, 92.7% of participants (38/41) had fewer than 50 HIV-1 RNA copies per mL. There were no cases of virologic failure. Three participants with historical lamivudine resistance were prematurely discontinued from the study (2 protocol violations, one adverse event). Ten participants (4 in the group with historical lamivudine resistance) had a transient viral rebound, all resuppressed on dolutegravir plus lamivudine. There were 28 drug-related adverse events, only one leading to discontinuation.

**Interpretation:** In this pilot trial, dolutegravir plus lamivudine was effective in maintaining virologic control despite past historical lamivudine resistance and presence of archived lamivudine resistance-associated mutations detected by next generation sequencing. Further studies are needed to confirm our results.

**Funding:** Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III P116/00837-P116/00678.

© 2020 Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license.

(<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

\* Corresponding authors. Federico Pulido, Unidad VIH. Centro de Actividades Ambulatorias 2ª Planta Bloque, D. Hospital 12 de Octubre, Av. Córdoba s/n. 28041-Madrid, Spain.

\*\* Co-Corresponding authors. José R. Arribas, MD, Infectious Diseases Unit, Internal Medicine Service, Hospital La Paz, IdiPAZ, Castellana 261, 28046 Madrid, Spain.

E-mail addresses: [federico.pulido@salud.madrid.org](mailto:federico.pulido@salud.madrid.org) (F. Pulido), [joser.arribas@salud.madrid.org](mailto:joser.arribas@salud.madrid.org) (J.R. Arribas).

# contributed equally

## co-senior authors

<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102779>

2352-3964/© 2020 Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

### Research in context

#### *Evidence before this study*

We searched PubMed for clinical trial publications, cohort studies, and review articles published between July 1, and November 30, 2019, with combinations of the search terms "lamivudine resistance", "HIV", "simplification", "switch", "proviral DNA", "next generation sequencing" (NGS), "nucleoside reverse transcriptase inhibitor", "integrase strand transfer inhibitor" (INSTI), "dolutegravir", "lamivudine" and "dual therapy", with no restrictions on language or publication date. We also searched for relevant publications from international HIV congresses (2018–2019) and we used public search engines to retrieve most updated guidelines. One large multicentric trial and other smaller-sized studies using lamivudine and dolutegravir as dual HIV-1 therapy in virologically suppressed patients have been reported. Retrospective cohort studies and one clinical trial have suggested that lamivudine might provide additional antiviral activity when combined with dolutegravir in treatment experienced patients history of lamivudine resistance-associated mutations. There is scarce data of the efficacy of lamivudine and dolutegravir as maintenance therapy in patients with historical resistance to lamivudine.

#### *Added value of this study*

ART-PRO 48-week study is the first prospective trial providing preliminary evidence that dolutegravir plus lamivudine can be efficacious in maintaining virological control in integrase inhibitor-naïve, long-term viral suppressed persons with a history of lamivudine resistance when baseline proviral DNA Sanger genotype does not detect the persistence of lamivudine resistance-associated mutations. This pilot study brings evidence against the notion that treatment with dolutegravir and lamivudine in the context of historical resistance to lamivudine is a functional dolutegravir monotherapy. We found that the presence of archived lamivudine resistance-associated mutations detected in proviral DNA by next generation sequencing, but not by population sequencing, did not affect the efficacy of the 21 patients included in this group. In ART-PRO study none of the 21 patients with either history of lamivudine resistance or detection of lamivudine resistance-associated mutations on DNA proviral sequencing experienced virological failure.

#### *Implications of all the available evidence*

Standard of care, three-drug combination antiretroviral therapy might bring toxicities leading to its interruption or to suboptimal compliance. In heavily treatment experienced persons with history of lamivudine resistance mutations, naïve to integrase-inhibitors, recycling discarded antiretrovirals such as lamivudine might open the possibility of avoiding toxicity or simplifying regimens. This is the first clinical trial specifically designed to address the efficacy of lamivudine and dolutegravir as dual therapy for maintenance of viral suppression in patients with historical lamivudine resistance as long as M184V/I and/or K65R/E/N mutations are not found on proviral DNA population sequencing prior to dual therapy initiation. Results from ART-PRO support further assessment of lamivudine and dolutegravir as dual therapy in treatment experienced HIV-1 infected persons with prior lamivudine resistance.

### Introduction

Antiretroviral treatment (ART) has led to improved control of HIV infection which, in turn, has given the opportunity to aspire for less-toxic but equally potent reduced-drug regimens. Dolutegravir plus lamivudine is endorsed by guidelines for treatment of persons initiating HIV treatment [1,2]. In treatment-experienced individuals a large multicenter study showed that dolutegravir plus lamivudine was non-inferior for maintenance of virological suppression to a tenofovir-alafenamide based triple-drug regimen at 48 weeks [3]. Other smaller studies demonstrated that residual viremia and viral reservoir did not increase after a year switch to dolutegravir plus lamivudine compared to standard therapy [4,5]. However, these studies excluded patients with prior virologic failure and data regarding the efficacy of dolutegravir plus lamivudine in persons with history of resistance to lamivudine are currently scarce. Specifically, there are no prospective data exploring the effect that archived lamivudine resistance mutations may exert upon the efficacy of a maintenance dual regimen of lamivudine plus dolutegravir.

Studies in virologically failing patients have shown that lamivudine retains antiviral efficacy despite evidence of lamivudine resistance-associated mutations [6–8]. The MOBIDIP study was the first trial evaluating a dual regimen including lamivudine for maintenance of HIV suppression in persons with history of lamivudine resistance-associated mutations. In said study, 265 virologically suppressed participants- 96% of whom had a historical genotype detecting the M184V mutation- were randomized to either boosted protease inhibitor monotherapy or to lamivudine plus boosted protease inhibitor. The study was prematurely discontinued after 48 weeks because the proportion of virologic failures with boosted protease inhibitor monotherapy was significantly higher compared to lamivudine plus boosted protease inhibitor (difference between groups 21.8%) [9]. Considering these results and in the context of past lamivudine resistance, we hypothesized that combining lamivudine to another drug with a high genetic barrier such as dolutegravir would also succeed in maintaining virologic suppression.

At present, it is still unknown if proviral DNA genotyping in virologically suppressed patients can predict the efficacy of a given treatment, and discussion persists as to whether proviral DNA adds additional helpful information to that of a historical genotype. DHHS guidelines currently recommend to cautiously interpret the results of proviral DNA resistance testing [2], as this assay may not detect all previously existing drug-resistance mutations [10–12]. Next-generation sequencing allowed to predict virological failure of initial ART based on non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors but, reducing the threshold to detect minority resistant variants also increased the number of persons misclassified as "at risk" of virological failure, when in fact they had good virological control- a finding that, authors argued, could lead to unnecessary changes in antiretroviral treatment [13]. The importance of detecting minority resistant populations in proviral DNA is even more questionable since a high proportion of archived HIV is non replicating [14,15]. In addition, there is currently little information on the relevance of those minority resistant populations detected by next-generation sequencing, but not through proviral DNA population sequencing.

We designed the pilot study ART-PRO to gather preliminary information on efficacy of dolutegravir plus lamivudine as maintenance therapy in virologically suppressed patients with past history of lamivudine-resistant mutations, but without present evidence of their persistence at study initiation in proviral DNA Sanger sequencing. We retrospectively performed next-generation sequencing of baseline samples to evaluate if resistance-associated mutations detected only through this technique could impact the antiviral efficacy of the regimen.

We hypothesized that long-term viral suppression could lead to clearance of historical resistance mutations, and that, if these were not detected by proviral DNA population genotyping at baseline, treatment with dolutegravir plus lamivudine would be able to maintain viral control in patients with prior history of lamivudine resistance. This would not only open the possibility to recycle discarded antiretrovirals but would also allow access to a simplified regimen endorsed by guidelines in patients who, owing to previous failures, are frequently treated with complex antiretroviral combinations that may include high pill burden or risk of toxicity. We also theorized that persisting mutations detected only through next-generation sequencing, but not in DNA bulk genotyping, would not negatively impact the efficacy of dolutegravir plus lamivudine.

The aim of this pilot study was to perform an initial test of the accuracy of our hypothesis, which, if so, would provide the grounds for a fully-powered study to confirm our findings.

## 2. Methods

### 2.1. Study design and participants

This pilot- proof of concept, single-arm, phase IIa, open label clinical trial took place in two university hospitals in Madrid (Spain): Hospital Universitario 12 de Octubre and Hospital Universitario La Paz.

Inclusion criteria were HIV-1 infected participants who were 18 years or older, on stable ART for at least 3 months, CD4 count of more 350 cell/ $\mu$ L, and HIV-1 RNA of less than 50 copies per mL in the year prior to study entry (allowing for one blip [HIV-1 RNA of less 500 copies/mL] in the 3 months before study entry, only if preceded and followed by HIV-1 RNA of less 50 copies/mL). For inclusion, participants had to have history of treatment with lamivudine or emtricitabine, to be naïve to integrase inhibitors and willing to switch ART owing to toxicity or for simplification reasons. Prior virologic failures were allowed and, for the purpose of the study, we included one group of participants with historical RNA genotypic test documenting a previous history of lamivudine resistance-associated mutations. Participants were excluded if lamivudine resistance-associated mutations were detected in proviral DNA by population genotyping at screening. Other exclusion criteria were pregnant, lactating or fertile women unwilling to commit to birth control and hepatitis B antigen S-positive infected persons.

All participants provided written informed consent. The study was approved by the Ethics Committee and is in accordance with applicable laws and the Declaration of Helsinki. The study protocol for ART-PRO is available online.

Although originally planned for 48 weeks, a 144-week extension of the study is currently ongoing.

### 2.2. Procedures

Participants were selected from our prior study that evaluated the concordance in detecting persistence of resistance-associated mutations in aviremic persons using proviral DNA population and next-generation sequencing genotyping ("GEN-PRO") [16].

In GEN-PRO study visit, we obtained samples for peripheral blood proviral DNA genotyping (Sanger sequencing using Big Dye Terminator (Applied Biosystem), and the Stanford HIVDB algorithm to interpret resistance mutations) and peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) to retrospectively perform next-generation sequencing. For next-generation sequencing, HIV-1 DNA was extracted from PBMCs using the QIAamp<sup>®</sup> DNA blood minikit (Qiagen, Hilden, Germany) and a 3385 bp pol gene fragment was then amplified by nested PCR as described elsewhere [17]. Next-generation sequencing was performed with Illumina in a MiSeq instrument (Illumina, San Diego, CA, USA). Sequences were preprocessed with Prinseq-lite (<http://prinseq.sourceforge.net/>) and FLASH (<http://www.cbcb.umd.edu/software/flash/>) programs [18,19]. The resulting aligned reads were analyzed for HIV-1 drug resistance testing with PaSeq software (<https://paseq.org/>). The 1% threshold was chosen for resistance interpretation. Baseline samples with lamivudine resistance-associated mutations detected through next-generation sequencing underwent hypermutation analysis with Hypermut 2.0 software (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/hypermut/hypermut.html>) using default settings. Individual sequencing reads from each patient were considered hypermutated when  $p < 0.05$  was obtained in Fisher's exact test that compared the number of APOBEC-associated G-to-A changes in each read with the G-to-A changes in the reference sequence (HXB2).

We reviewed if participants qualified for the ART-PRO study on the basis of inclusion and exclusion criteria. To be eligible, proviral DNA population genotype had to be performed at most 45 days before switching treatment without detecting lamivudine resistance-associated mutations. For the participants included in this study, we considered the GEN-PRO study visit as the screening visit.

There were two groups of participants: one group without history of lamivudine resistance or without lamivudine resistance-associated mutations in historical RNA genotype and a second group with lamivudine resistance-associated mutations in historical RNA genotype.

On the first study visit (day 1), participants were switched to dolutegravir 50 mg plus generic lamivudine 300 mg both taken orally once daily. Thereafter, scheduled visits were performed at week 4, 8, 12, 24, 36 and 48. At all visits participants underwent medical evaluation including physical examination, reporting of adverse events, review of concomitant medications, HIV-1 RNA viral load, CD4+ cell count, hemogram, lipid profile, liver, urine and renal function tests. Adherence was measured using pill count.

Any viral rebound had to be followed by a re-test within a two-week window to confirm that the viral load decreased under 50 HIV-1 RNA copies per mL. If any participant had HIV-1 RNA above 200 copies per mL we performed plasma genotyping testing in the integrase and reverse transcriptase (ViroSeq HIV-1 Genotyping System, Abbott Molecular, Spain).

Adverse events were graded and classified as drug related when appropriate by the investigator. Patients could be withdrawn from the study for safety reasons, if unable to participate in study proceedings, lost to follow-up or at their own request anytime throughout the study.

### 2.3. Outcomes

The primary outcome was the proportion of participants with HIV RNA below 50 copies per mL at 48 weeks, in the intention-to-treat-exposed population using the US Food and Drug Administration (FDA) snapshot algorithm.

Secondary efficacy outcomes included the proportion of participants with HIV RNA below 50 copies per mL at week 24 (FDA-snapshot, intention-to-treat-exposed population), the proportion of participants with virologic failure at week 48 using FDA-snapshot algorithm, transient virological rebounds (defined as unconfirmed episodes of detectable viral load), mean change in CD4+ cells count per  $\mu$ L from baseline to week 48 and incidence, type and number of resistance mutations at week 48.

Safety and tolerability outcomes were incidence of adverse events and treatment discontinuation due to toxicity or intolerance.

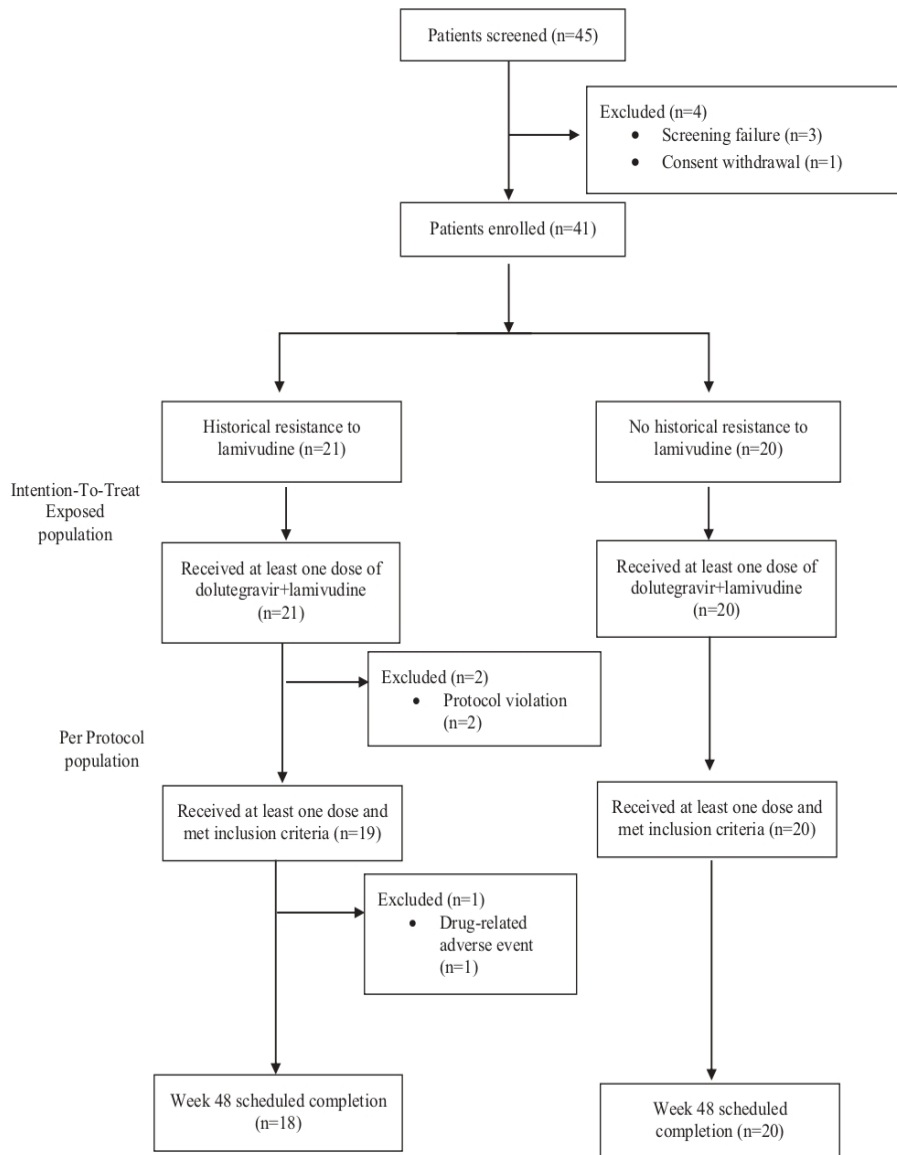
### 2.4. Statistical analysis

This is a pilot, proof of concept trial and as such we performed convenience sampling and selected a small number of participants. Initially we intended to recruit 20 participants for each arm (total 40). All analysis were prespecified and described in the protocol.

Intention-to-treat-exposed population included all participants receiving at least one dose of dolutegravir plus lamivudine. We calculated the proportion of participants with HIV RNA below 50 copies per mL at 48 weeks, in the intention-to-treat-exposed population using the US Food and Drug Administration (FDA) snapshot algorithm in each of the two groups of participants separately. In the per protocol analysis we included all subjects receiving at least one dose of study treatment with no deviation to the eligibility criteria. For the primary endpoint we included the analysis of the proportion

of participants with missing data following the FDA snapshot algorithm. For the secondary endpoint analysis, we included only participants with complete information.

Descriptive analysis of individuals' characteristics was performed using frequency tables for categorical variables and median and interquartile range for continuous variables. Differences in socio-demographic and clinical characteristics according to historical mutation group were assessed with the non-parametric Kruskal-Wallis test for continuous variables and the chi-squared test for



**Figure 1.** Trial participant flow chart. Intention-to-treat exposed population includes every participant receiving at least one dose of dolutegravir+lamivudine. Per protocol population excludes participants who received the therapy with protocol deviations.



**Table 1**  
Demographic and Baseline characteristics for the enrolled participants (n=41).

	All participants (n=41)	Historical resistance to lamivudine (n=21)	No historical lamivudine resistance (n=20)	p value
Male sex, n (%)	32 (78.1)	16 (76.2)	16 (80)	0.768
Age (years), median (IQR)	52.4 (45.4-56.9)	53.4 (47.1-57.6)	50.8 (42.9-55.3)	0.636
Time since HIV diagnosis (years), median (IQR)	20.6 (15-25.1)	21.5 (17.5-23.5)	16.9 (12-27.4)	0.342
HIV mechanism of transmission, n (%)				0.383
Men who have sex with men	14 (34.1)	5 (23.8)	9 (45)	
Heterosexual	9 (22)	6 (28.6)	3 (15)	
Intravenous drug users	13 (31.7)	8 (38.1)	5 (25)	
Other	5 (12.2)	2 (9.5)	3 (15)	
CD4 count (cells/mm <sup>3</sup> ), median (IQR)				
Nadir	196 (93-290)	160 (99-216)	259 (70-314)	0.161
Baseline	673 (531-842)	705 (531-871)	647 (530-800)	0.527
ART duration (years), median (IQR)	18 (13.1-21.4)	18.8 (17.2-21)	13.1 (7.9-21.6)	0.085
Duration of suppressed plasma HIV RNA (years), median (IQR)	6 (3.3-11)	7.7 (4-12)	5.3 (3-8.9)	0.272
Number of previous ART regimens, median (IQR)	6 (4-10)	7 (5-10)	4 (2-7)	0.427
Type of ART regimen at baseline, n (%)				0.002
2 NRTI + bPI	8 (19.5%)	7 (33.3)	1 (5)	
2 NRTI + NNRTI	9 (22)	2 (9.5)	7 (35)	
1 NNRTI + bPI	5 (12.2)	5 (23.8)	0 (0)	
1 NRTI + bPI	14 (34.1)	3 (14.3)	11 (55)	
bPI monotherapy	5 (12.2)	4 (19)	1 (5)	
Baseline ART including lamivudine or emtricitabine	28 (68.3)	9 (42.9)	19 (95)	<0.001
Time from historical RNA genotype to baseline proviral DNA sequencing	12.9 (11.1-14.4)	13.4 (11.1-14.6)	10.4 (4.3-13.6)	0.152
M184V (Proximal DNA Sanger genotype) <sup>†</sup>	2 (4.9)	2 (9.5)	0 (0)	0.488
M184V/I detected by NGS in proviral DNA, n (%)				
>20%	8 (19.5)	7 (33)	1 (5)	0.046
>10%	13 (31.7)	11 (52.4)	2 (10)	0.007
>5%	17 (45.5)	14 (66.7)	3 (15)	0.002
>1%	27 (65.9)	20 (95.2)	7 (35)	<0.01
K65R/E/N detected by NGS in proviral DNA, n (%) <sup>†</sup>				
>20%	1 (2.4)	1 (4.8)	0 (0)	1
>10%	2 (4.9)	2 (9.5)	0 (0)	0.488
>5%	2 (4.9)	2 (9.5)	0 (0)	0.488
>1%	3 (7.3)	3 (14.3)	0 (0)	0.233

Abbreviations: 3TC: lamivudine, ART: antiretroviral treatment, bPI: boosted protease inhibitor, FTC: emtricitabine, NRTI: Nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTI: Non- Nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), NGS: Next-Generation Sequencing.

\* Protocol violation.

† Of those who initiated cART prior to labour.

independence for categorical variables. Adjusted differences of the mean change in CD4 cell counts, lipid parameters and weight at week 48 compared to baseline and significance were assessed with a multivariable linear regression using as covariables the historical mutation group and the baseline value (analysis of covariance). We assessed the association between categorical variables using the  $\chi^2$  test when samples were of sufficient size or with the Fisher exact test when they were not.

We compared the frequency of resistance mutations detected by next-generation sequencing and proviral bulk genotyping, and we analyzed the percentage of participants with M184V/I and/or K65R/E/N detected by next-generation sequencing at 1%, 5%, 10% and 20% thresholds at study entry.

We performed a planned interim analysis at week 24. To continue the study at least 80% of patients with an adherence over 90% needed to have HIV RNA below 50 copies per mL in each study group, without emergence of any new resistance mutations in case of virologic failure.

All analyses were prespecified in the protocol and were performed using Stata software (version 15.0; Stata Corporation, College Station, Texas, USA).

### 2.5. Role of the funding source

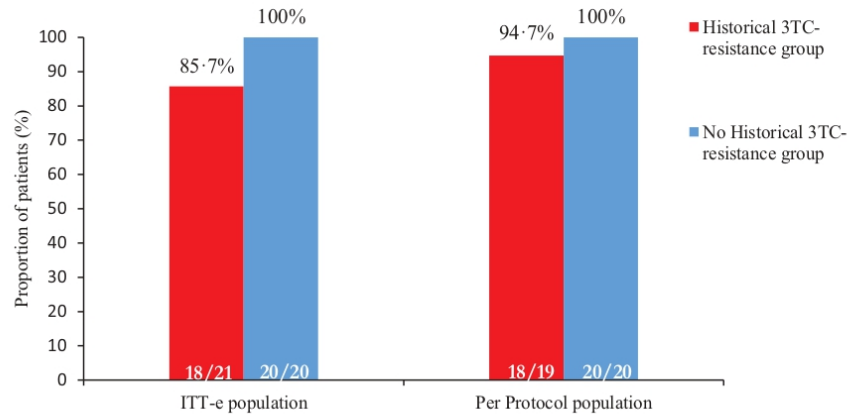
The funding source had no role in designing, collecting, interpreting or writing of the report. All authors had access to the data and final manuscript and vouch for the veracity of the submitted publication. The corresponding authors are responsible for the decision to submit the study for publication.

## 3. Results

Between September 25, 2017, and April 9, 2018, we assessed the eligibility to participate in this study. Participants were selected among the 102 participating subjects of our prior study GEN-PRO, of whom 45 were offered to participate in ART-PRO to achieve our intended sample size (Figure 1). Forty-one participants on suppressive ART were included and switched to dolutegravir plus lamivudine: based on historical RNA genotype 21 had a history of resistance to lamivudine and 20 had not. Median time between the historical RNA genotype and baseline proviral DNA sequencing was 12.9 years (IQR: 6.7-14.4).

Baseline demographic characteristics at study entry were overall similar between groups (Table 1). Participants with previous lamivudine resistance had a non-statistically significant longer duration of HIV infection and lower CD4+ nadir count and had received a greater number of prior treatment regimens and were less likely to be receiving treatment with lamivudine or emtricitabine prior to entering the study compared to those without historical lamivudine resistance. Median duration of HIV viral suppression was 6 years (IQR 3.3-11) in both groups, which was also higher in the group with historical lamivudine resistance (7.7 years versus 5.3 years in the group without history of lamivudine resistance).

Proximal DNA next-generation sequencing genotypes from baseline samples obtained before switching ART were retrospectively available in all cases except for one participant belonging to the non-historical lamivudine resistance group, in whom amplification was unsuccessful. Seven participants with historical lamivudine resistance had the



**Figure 2.** Proportion of patients with virological suppression at W48 in Intention-to-treat-exposed (ITT-e) and Per-protocol analysis. ITT-e population is defined as all participants who received at least one dose of study treatment; PP population is defined as all participants who received at least one dose of study treatment and had no deviation to the eligibility criteria. Virological suppression was defined as an HIV RNA viral load of less than 50 copies per mL.

Abbreviations: 3TC: lamivudine.

**Table 2**

FDA-snapshot at W48, Intention to treat- exposed (ITT-e) analysis population (n=41). Abbreviations: AE: adverse event.

	All participants (n=41)	Historical resistance to lamivudine (n=21)	No historical resistance to lamivudine (n=20)
HIV-1 RNA $\leq$ 50 copies/mL	38 (92.7)	18 (85.7)	20 (100)
Virologic failure	0 (0)	0 (0)	0 (0)
HIV-1 RNA $\geq$ 50 copies/mL	0 (0)	0 (0)	0 (0)
HIV-1 RNA $\geq$ 50 copies/mL in W48 window	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Discontinuation Study Drug due to Lack of Efficacy	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Discontinuation Study Drug due to other reasons and Last available HIV-1 RNA $\geq$ 50 copies/mL	0 (0)	0 (0)	0 (0)
No virologic data at W48	3 (7.3)	3 (14.3)	0 (0)
Discontinuation Study Drug Due to AE	1 (2.4)	1 (4.8)	0 (0)
Discontinuation Study Drug due to other reasons and Last available HIV-1 RNA $<$ 50 copies/mL	2 (4.9)	2 (9.5)	0 (0)

M184V/I and/or K65R/E/N mutations detected over the 20% threshold at baseline by next generation sequencing. When considering over a 5% threshold more than half of the participants with history of lamivudine resistance (15/21) had these mutations, and almost all participants in this group had lamivudine resistance-associated mutations when the 1% threshold was applied (20/21). Among participants without historical lamivudine resistance, none presented the K65R/E/N mutation but in three and seven cases the M184I mutation was detected with over a 5% or 1% threshold, respectively, including one participant harboring the M184I mutation with a 99% frequency. Reads with lamivudine resistance-associated mutations detected through next-generation sequencing (1% threshold) were subjected to hypermutation analysis, showing that 16/27 samples harbored retrotranscriptase defective viral genomes due to APOBEC-induced mutations. After removal of reads identified as hypermutated, lamivudine resistance-associated mutations remained present in 22 of the 27 initial samples.

Two participants in the history of lamivudine resistance group -initially misclassified as lacking lamivudine resistance-associated mutations- had the M184V mutation detected in proviral DNA Sanger sequencing at baseline (protocol violation).

38/41 patients completed the 48 weeks of study. There were three participants that prematurely discontinued: the two protocol violations (week 12) and one withdrawal due to an adverse event (week 8), all doing so with HIV RNA below 50 copies per mL. At week 48, 92.7% of participants (38/41) remained with HIV RNA below 50

copies per mL (FDA-snapshot intention- to- treat- exposed analysis). All participants completing 48 weeks reached the primary efficacy endpoint of HIV RNA below 50 copies per mL following the FDA-snapshot algorithm (Figure 2, Table 2). The three participants that did not complete the study belonged to the historical lamivudine resistance group: primary efficacy endpoint in this group was 85.7 % in the intention- to- treat- exposed analysis (18/21 of participants with HIV RNA below 50 copies per mL at week 48) and 94.7% in the per-protocol analysis (18/19 HIV RNA below 50 copies per mL at week 48) (Table 2). The three non-completers abandoned the study before reaching week 24, hence, efficacy at week 24 does not differ from the results presented for week 48.

Ten participants – four from the historical lamivudine resistance and six from the non- lamivudine resistance group- had a transient low-level viral rebound followed by a re-test HIV RNA below 50 copies per mL (Table 3). Two of these occurred on day 1 of the study (before switching treatment), and in half of the cases the person admitted to temporary low adherence or was suffering a concomitant mild infection. All cases of transient viral rebound re-suppressed without changing treatment. We were able to obtain Sanger sequencing in two participants with history of M184V/I mutation who had a transient viral rebound, including one individual rebounding to 1120 copies/mL at week 36 (Figure 3); there was no re-emergence of lamivudine-resistance associated mutations nor did we identify any newly acquired integrase mutations. Three of the six participants

**Table 3**  
Therapeutic, viral and biological characteristics of patients presenting transient virological rebound during follow-up.

Baseline	History of K65/M184V mutation	Time suppressed before dual therapy (months)	Follow-up Visit (week)	HIV-1 RNA (copies/mL)	resistance test	HIV-1 RNA after blip (copies/mL)	ART prior to study entry	Comment	Follow-up
Patient A	Yes	122	W8	120	NP	<50	TDF/FTC-DRV/r	Concomitant respiratory infection	Continued on study
Patient B	No	24	W4	236	Integrase NM: RT: L210W; T215D PR: 13V: 63P	<50	3TC+DRV/c	W4 and W36 Concomitant respiratory infection. W24: Received intramuscular steroids	Continued on study
Patient C			W4	120	NP	<50	TDF/FTC-EFV		Continued on study
	No	32	W24	73	NP	<50			
			W36	63	NP	<50			
Patient D	No	47	Day 1	108	NP	<50	3TC+DRV/r		Continued on study
Patient E	No	72	Day 1	1.943	RT: 697N	<50	TDF/FTC/RPV		Continued on study
Patient F	Yes	93	W12	64	NP	<50	ETV+DRV/r	Concomitant respiratory infection	Withdrawn (protocol violation)
Patient G	No	35	W12	112	NP	<50	3TC+DRV/c		Continued on study
Patient H	No	92	W36	202	AU	<50	TDF/FTC-EFV	Low adherence	Continued on study
Patient I	Yes	151	W36	1.120	Integrase: NM: RT and PR: AU	<50	TDF+DRV/c	Recent flu vaccination	Continued on study
Patient J	Yes	181	W48	257	Integrase: NM: RT: M184V//not detected.	<50	DRV/c		Continued on study

\* All patients with VL > 200 copies/mL had a resistance test requested. Not performed (NP) indicates when such test was requested but not performed at laboratory discretion due to low-level viremia.

Abbreviations: AU: amplification unsuccessful. NM: no mutations NP: not performed. PR: protease. PV: protocol violation. RT: retrotranscriptase. ART: antiretroviral treatment. TDF: tenofovir disoproxil fumarate. FTC: entricitabine. DRV/r: darunavir/ritonavir. 3TC: lamivudine. DRV/c: darunavir/cobicistat. EFV: efavirenz. RPV: rilpivirine. ETV: etravirine.

without historical lamivudine resistance who had transient low-level viral rebound had the M184I mutation detected through next-generation sequencing in baseline proviral DNA, including the participant who had this mutation detected at a frequency above 99%. Notably, this participant's viral rebound occurred on day 1 of the study when he had not yet received the first dose of dolutegravir plus lamivudine, and remained without any blips throughout the study.

Through week 48, there were no cases of withdrawal due to virologic failure and no emergence of resistance mutations. None of the 21 participants who had either history of lamivudine resistance or detection of lamivudine resistance-associated mutations above the 5% threshold in proviral DNA had virologic failure after 48 weeks of follow-up (IC95% 0–14%). At 48 weeks, there was not a significant difference in mean change of CD4 count from baseline (23.84 cells/mm<sup>3</sup>, p=0.686, IC95% -94.88–142.56).

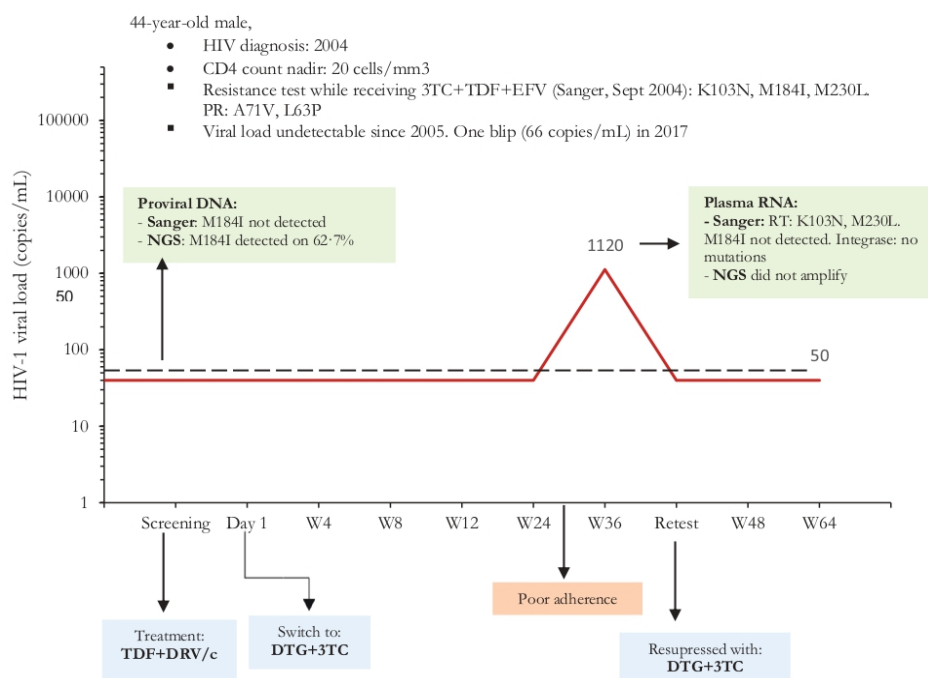
There were 28 treatment related adverse events (Table 4). Most drug related adverse events were mild cases of flatulence or insomnia that spontaneously resolved in the first weeks after the switch. One participant had newly acquired insomnia attributed to dolutegravir leading to treatment discontinuation on week 8, after which his symptoms disappeared. The only laboratory grade 3 drug-related adverse event occurred in one participant in the group with historical lamivudine resistance (hypercholesterolemia). We found no difference in total cholesterol, HDL, LDL mean changes by group. Mean weight change from baseline was 1.36 kg (95% CI -1.11; 3.84) without significant differences by group.

#### 4. Discussion

In this pilot trial dolutegravir plus lamivudine maintained virologic suppression through 48 weeks despite history of lamivudine resistance and detection of archived lamivudine resistance-associated mutations in proviral DNA by next generation sequencing but not by population sequencing. These results provide preliminary evidence supporting the combination of dolutegravir plus lamivudine as a reduced-drug regimen for maintenance of HIV suppression in integrase naïve persons with historical lamivudine resistance, without lamivudine resistance-associated mutations detected by proviral DNA Sanger sequencing.

Our results and those of others do not support the assumption that dolutegravir plus lamivudine in patients with prior history of lamivudine resistance is functional dolutegravir monotherapy. In ART-PRO none of the 21 participants reaching week 48 who had either history of lamivudine resistance or detection of lamivudine resistance mutations above the 5% threshold in proviral DNA experienced virologic failure. In two other clinical trials a total of 21 participants with history of lamivudine resistance or detection of lamivudine resistance-associated mutations in proviral DNA did not experience virologic failure 48 weeks after switching to dolutegravir plus lamivudine [20–22]. Adding the results of these three trials, none of a total of 42 participants with history and/or detection of lamivudine resistance-associated mutations have developed virologic failure after switching to dual therapy with dolutegravir plus lamivudine. In contrast, pooled data from dolutegravir monotherapy studies for maintenance treatment revealed a proportion of virologic failure of 8.9% (95% CI 4.7–16.2) at 48 weeks [23]. These differences in the rates of virological failure suggest that lamivudine might provide significant antiviral activity to dolutegravir despite the presence of archived lamivudine resistance mutations. Additional support for this hypothesis comes from two retrospective cohort studies in which a historical plasma genotype detecting the M184V mutation was not predictive of virologic failure in participants switching to lamivudine-based dual therapies with either a protease inhibitor or an integrase inhibitor [24,25].

The residual antiviral efficacy of lamivudine was demonstrated more than a decade ago in a study showing a viral load increase of 0.5 log<sub>10</sub> after discontinuing lamivudine despite the presence of the



**Figure 3.** Viral load evolution of the patient presenting over 1000 copies/mL at W36.

Abbreviations: 3TC: lamivudine, DRV/c: darunavir/cobicistat, DTG: dolutegravir, EFV: efavirenz, NGS: Next-generation sequencing, RT: Retrotranscriptase, TDF: tenofovir disoproxil fumarate.

**Table 4**  
Overview of drug-related adverse events.

	Historical resistance to lamivudine		No historical resistance to lamivudine		
	(n=21)		(n=20)		
	Patients	Adverse events	Patients	Adverse events	p-value
<b>Any adverse event</b>	10 (47.6%)	13	8 (40%)	15	0.624
<b>Grade 3 or 4 adverse event</b>	1 (4.8%)	1	0 (0%)	0	<0.001
<b>Laboratory Grade 3 or 4 adverse event</b>	1 (4.8%)	1	0 (0%)	0	<0.001
<b>Serious adverse event</b>	0 (0%)	0	0 (0%)	0	
<b>Discontinuation due to adverse event</b>	1 (4.8%)	1	0 (0%)	0	<0.001
<b>Death</b>	0 (0%)	0	0 (0%)	0	
<b>Adverse events occurring in at least 5% of patients in either group</b>					
Digestive	2 (9.5%)	2	4 (20%)	5	0.342
Neuropsychiatric	5 (23.8%)	5	3 (15%)	3	0.477
Dermatologic	0 (0%)	0	1 (5%)	1	<0.001
Musculoskeletal	2 (9.5%)	2	1 (5%)	1	<0.001
Head and neck	0 (0%)	0	2 (10%)	2	0.1373

M184V mutation [26]. Another study reported lower viral rebound in persons harboring the M184V who received lamivudine monotherapy compared to patients interrupting treatment [27]. In addition to the antiviral effect of lamivudine, the maintenance of the M184V/I mutations might contribute to the success of dolutegravir plus lamivudine by sustaining a diminished viral fitness and preventing the emergence of resistance mutations against dolutegravir [28,29].

Another factor that might have contributed to the success of the dolutegravir plus lamivudine regimen in this pilot trial is the

exclusion of participants if baseline proviral DNA population genotyping detected lamivudine resistance-associated mutations. In our study GEN-PRO [16] we found that when lamivudine resistance-associated mutations were absent in proviral DNA by population genotyping, the percentage of lamivudine resistance-associated mutations detected by next-generation sequencing was much lower than when proviral DNA population sequencing did detect lamivudine resistance-associated mutations. Only 17.1% of the participants in ART-PRO had detection of lamivudine resistance-associated

mutations by next generation sequencing with a threshold over 20%. This is in contrast with GEN-PRO, where 78.5% of participants with lamivudine resistance-associated mutations detected in proviral DNA by population genotyping had these mutations detected by next generation sequencing with a threshold of 20%. We believe baseline proviral DNA population sequencing renders at least some assurance that past lamivudine resistance-associated mutations are not persisting at high levels and thus, increases the probability of response to dolutegravir plus lamivudine. In our study, the hypermutation analysis showed that 18.5% of mutations associated with lamivudine resistance detected at baseline through next-generation sequencing were from hypermutated viral sequences, and therefore, not clinically relevant. However, this analysis does not completely exclude that the archived resistance mutations found in our study may be related to defective viral genomes for other reasons different to hypermutation, such as large internal deletions [15].

In our study the group with historical lamivudine resistance had longer duration of viral suppression (7.7 vs 5.3 years) compared to the group without historical lamivudine resistance. It has been postulated that the duration of virologic suppression could have some role in the dynamics of lamivudine resistance. The small sample size prevents us from inferring if this had a significant impact in our results, however, in the study by Gagliardini et al. [30] dual therapy with either boosted protease inhibitor or integrase inhibitor plus lamivudine in persons with past M184V demonstrated only a statistically higher risk of virological failure for those with a viral suppression equal or under three years, which is inferior to the median viral suppression duration in our study.

The most important limitations of our study are the small sample size-characteristic of a pilot proof-of-concept clinical trial and the relative short follow-up. We intentionally recruited a small number of participants because treatment with dolutegravir plus lamivudine in suppressed persons with prior history of resistance to lamivudine had never been prospectively tested before. A 144-week extension of our study is currently ongoing, but further studies are necessary to confirm our findings.

To our knowledge, our study is the only specifically designed to address the outcomes of dolutegravir plus lamivudine for maintenance of viral suppression in patients with historical resistance to lamivudine. Our results generate the hypothesis that a switch to dolutegravir plus lamivudine in integrase-inhibitor naïve persons with historical lamivudine resistance-associated mutations could be effective in preserving virologic suppression at 48 weeks, under the condition that, before switching to dual therapy, proviral DNA population sequencing does not detect the persistence of lamivudine resistance-associated mutations. The findings of this pilot trial call for a larger, fully-powered study to confirm our results.

#### Declaration of Competing Interest

RDM reports grants from Fondo de Investigaciones Sanitarias, during the conduct of the study; personal fees and non-financial support from Janssen, non-financial support from ViiV, non-financial support from Gilead, outside the submitted work.

DR reports personal fees from Gilead Sciences Inc, personal fees from Janssen Cilag, grants and personal fees from ViiV Healthcare, outside the submitted work.

LD reports payment for lectures from Gilead and Janssen, and financial support for expert courses and congress from Merck Sharp and Dome, Gilead and Abbvie, outside the submitted work.

RM reports grants from Juan Rodes 18/00039, during the conduct of the study; personal fees from ViiV Health care, personal fees from Janssen Cilag, outside the submitted work.

OB reports non-financial support from GILEAD, personal fees from GILEAD, personal fees from ViiV, grants from ViiV, non-financial support from MSD, grants from ViiV, outside the submitted work.

AE reports grants from Instituto de Salud Carlos III, during the conduct of the study.

PA reports personal fees from ViiV Healthcare, outside the submitted work.

NS reports personal fees from Janssen, personal fees from Gilead, outside the submitted work.

LB has nothing to disclose.

MG reports grants and personal fees from Hologic, grants from Roche diagnostics, grants from Beckman coulter, personal fees from ViiV Health Care, grants from Instituto de Salud Carlos III, outside the submitted work.

JC reports grants from Instituto de Salud Carlos III - Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, outside the submitted work.

MS reports personal fees from Janssen Cilag, personal fees from ViiV Healthcare, outside the submitted work.

BA has nothing to disclose.

AH has nothing to disclose.

MM has nothing to disclose.

JC has nothing to disclose.

VM reports personal fees from ViiV Health Care, personal fees from Gilead Sciences, personal fees and non-financial support from Janssen Cilag, personal fees from Merck Sharp & Dohme, outside the submitted work.

LM reports personal fees from Gilead, personal fees from ViiV, personal fees from MSD, personal fees from Janssen, outside the submitted work.

RR reports personal fees from ViiV Health Care, personal fees from Gilead Sciences, personal fees from Janssen Cilag, personal fees from Merck Sharp & Dohme, outside the submitted work.

RD has received conference fees from ViiV.

FP reports grants from Instituto de Salud Carlos III, during the conduct of the study; personal fees from Gilead Sciences, personal fees from Janssen, personal fees from MSD, personal fees from ViiV Healthcare, outside the submitted work.

JRA reports grants from Instituto de Salud Carlos III, during the conduct of the study; grants and personal fees from ViiV, Gilead, personal fees from Janssen, MSD, Alexa, TEVA, outside the submitted work.

#### Contributors

JRA, FP, LD, RM, NS, OB, AH, and RD participated in the conceptualization and design of the study. RDM, DR, LD, RM, OB, JC, VM, LM, RR, FP and JRA were study investigators and participated in the conduct of the study, including the recruitment and follow-up of participants. AE, PA, NS, MG, and RD performed DNA sequencing and resistance analysis. LB, AH, MS, MM and JMC curated data, project administration, and coordination. BA, RDM, DR, LD and RM were involved with formal data analysis. JRA and FP were responsible for funding acquisition and supervision of all the processes of the trial. All authors participated in the drafting and review of the manuscript.

#### Data Sharing

Study protocol will be available online at the time of publication. Deidentified participant data and study documents will be accessible with a signed data access agreement upon approval of a proposal.

#### Acknowledgments

This study was funded by Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III P116/00837 - P116/00678. RDM is supported by a Rio Hortega fellowship from Fondo de Investigaciones Sanitarias (CM17/00064). M.G.A. is supported by "Instituto de Salud Carlos III" (JR15/00031). AE is supported by a PHS fellowship from Fondo de Investigaciones Sanitarias (FI17/00194). JC is supported by a Rio Hortega fellowship from Fondo de Investigaciones Sanitarias (CM19/00059).

The authors thank the study participants; their families and caregivers; investigators and site staff who participated in the study.

## Supplementary materials

Supplementary material associated with this article can be found in the online version at doi:10.1016/j.ebiom.2020.102779.

## Appendix

### ART-PRO, P116/00837-P116/00678 study group:

**Hospital Universitario La Paz - IdiPAZ, Madrid, Spain:** J.R. Arribas, R. De Miguel Buckley, R. Montejano, A. Esteban-Cantos, N. Stella-Ascariz, J. Cadiñanos, M. Mayoral, J.M. Castro, V. Moreno, L. Martín-Carbonero, E. Valencia, I. Bernardino, C. Busca, R. Micán, I. Pérez-Valero, J. González, M.L. Montes, J. Rodríguez Centeno.

**Hospital Universitario 12 de Octubre - Imas12, Madrid, Spain:** F. Pulido, D. Rial-Crestelo, L. Domínguez-Domínguez, P. Aranguren-Rivas, O. Bisbal, L. Bermejo Plaza, M. García-Alvarez, M. Santacreu-Guerrero, M. de Lagarde, M. Matarranz, J. Luzzkoviak, A. Sotillo, R. Delgado, R. Rubio.

**Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain:** B. Alejos

**Universidad Europea de Madrid- Imas12, Madrid, Spain:** A. Hernando

## References

- [1] EACS Guidelines version 10.0, November 2019. 2019;(November).
- [2] Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents with HIV. Dep Heal Hum Serv 2018.
- [3] van Wyk J, Ajana F, Bisshop F, De Wit S, Osiyemi O, Portilla J, et al. Efficacy and Safety of Switching to Dolutegravir/Lamivudine Fixed-Dose Two-Drug Regimen Versus Continuing a Tenofovir Alafenamide–Based Three- or Four-Drug Regimen for Maintenance of Virologic Suppression in Adults With HIV-1: Phase 3, Randomized, Non-inf. Clin Infect Dis. 2020 Jan.
- [4] Charpentier C, Peytavin G, Burdet C, Landman R, Lê M, Katlama C, et al. Residual HIV-1 RNA, HIV-1 DNA, and Drug Plasma Cmin in Dual DTG+3TC. ANRS 167 Lami-dol. CROI 2019 2019.
- [5] Li JZ, Sax PE, Marconi VC, Fajnzylber J, Berzins B, Nyaku AN, et al. No significant changes to residual viremia after switch to dolutegravir and lamivudine in a randomized trial. Open Forum Infect Dis 2019;6(3):5–8.
- [6] Paton NI, Kityo C, Hoppe A, Boles J, Thompson J, Tumukunde D, et al. Assessment of second-line antiretroviral regimens for HIV therapy in Africa. N Engl J Med 2014 Jul;371(3):234–47.
- [7] La Rosa AM, Harrison LJ, Taiwo B, Wallis CL, Zheng L, Kim P, et al. Raltegravir in second-line antiretroviral therapy in resource-limited settings (SELECT): a randomised, phase 3, non-inferiority study. Lancet HIV. 2016 Jun;3(6):e247–58.
- [8] Study Group SECOND LINE, Boyd M, Kumarasamy N, Moore CL, Nwizu CA. Ritonavir-boosted lopinavir plus nucleoside or nucleotide reverse transcriptase inhibitors versus ritonavir-boosted lopinavir plus raltegravir for treatment of HIV-1 infection in adults with virological failure of a standard first-line ART regimen (SECOND). Lancet 2013 Jun;381(9883):2091–9.
- [9] Cialfi L, Koulla-Shiro S, Sawadogo AB, Ndour CT, Eymard-Duvernay S, Mbouyap PR, et al. Boosted protease inhibitor monotherapy versus boosted protease inhibitor plus lamivudine dual therapy as second-line maintenance treatment for HIV-1-infected patients in sub-Saharan Africa (ANRS12 286/MOBIIDIP): a multicentre, randomised, parallel, open-la. Lancet HIV 2017;4(9):e384–92.
- [10] Wirten M, Soulie C, Valantin MA, Fourati S, Simon A, Lambert-Niclot S, et al. Historical HIV-RNA resistance test results are more informative than proviral DNA genotyping in cases of suppressed or residual viraemia. J Antimicrob Chemother 2011;66(4):709–12.
- [11] Allavena C, Rodallec A, Leplat A, Hall N, Luco C, Le Guen L, et al. Interest of proviral HIV-1 DNA genotypic resistance testing in virologically suppressed patients candidate for maintenance therapy. J Virol Methods 2018;251(October 2017):106–10.
- [12] Delaugerre C, Braun J, Charreau I, Delarue S, Nere ML, de Castro N, et al. Comparison of resistance mutation patterns in historical plasma HIV RNA genotypes with those in current proviral HIV DNA genotypes among extensively treated patients with suppressed replication. HIV Med 2012;13(9):517–25.
- [13] Inzaule SC, Hamers RL, Noguera-Julian M, Casadella M, Parera M, Kityo C, et al. Clinically relevant thresholds for ultrasensitive HIV drug resistance testing: a multi-country nested case-control study. Lancet HIV 2018;5(11):e638–46.
- [14] Dauwe K, Staelens D, Vancoillie L, Mortier V, Verhofstede C. Deep Sequencing of HIV-1 RNA and DNA in Newly Diagnosed Patients with Baseline Drug Resistance Showed No Indications for Hidden Resistance and Is Biased by Strong Interference of Hypermutation. Caliendo AM, editor. J Clin Microbiol 2016 Jun;54(6):1605–15.
- [15] Ho YC, Shan L, Hosmane NN, Wang J, Laskey SB, Rosenbloom DS, et al. Replication-competent noninduced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure. Cell 2013;155(3):540.
- [16] Domínguez-Domínguez L, Montejano R, Esteban-cantos A, García M, Stella-Ascariz N, Bisbal O, et al. Prevalence and factors associated to the detection (population and next generation sequencing) of archived 3TC resistance mutations in aviremic HIV-infected adults (GEN- PRO). 17th European AIDS Conference; 2019. PE13/2.
- [17] Perrier M, Visseaux B, Landman R, Joly V, Todesco E, Yazdanpanah Y, et al. No impact of HIV-1 protease minority resistant variants on the virological response to a first-line PI-based regimen containing darunavir or atazanavir. J Antimicrob Chemother 2018;73(1):173–6.
- [18] Schmieder R, Edwards R. Quality control and preprocessing of metagenomic datasets. Bioinformatics 2011;27(6):863–4.
- [19] Magoc T, Salzberg SL. FLASH. Fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies. Bioinformatics 2011;27(21):2957–63.
- [20] Van Wyk J, F Ajana, Bisshop F, Dewit S, Osiyemi O, Portilla J, et al. Switching To DTG-3TC Fixed-Dose Combination (Fdc) Is Non-Inferior To Continuing a Taf-Based Regimen in Maintaining Virologic Suppression Through 48 Weeks (Tango Study). IAS 2019 2019.
- [21] Reynes J, Meftah N, Tuailon E, Charpentier C, Montes B. Dual regimen with dolutegravir and lamivudine maintains virologic suppression even in heavily treatment experienced HIV-infected patients: 96 weeks results from maintenance DOLULAM study. IAS 2017 2017.
- [22] Charpentier C, Montes B, Perrier M, Meftah N, Reynes J. HIV-1 DNA ultra-deep sequencing analysis at initiation of the dual therapy dolutegravir + lamivudine in the maintenance DOLULAM pilot study. J Antimicrob Chemother 2017 Oct;72(10):2831–6.
- [23] Wandeler G, Buzzi M, Anderregg N, Sculier D, Béguin C, Egger M, et al. Virologic failure and HIV drug resistance on simplified, dolutegravir-based maintenance therapy: Systematic review and meta-analysis. F1000Research 2019;7:1359.
- [24] Gagliardini R, Ciccullo A, Borghetti A, Maggiolo F, Bartolozzi D, Borghi V, et al. Impact of the M184V Resistance Mutation on Virological Efficacy and Durability of Lamivudine-Based Dual Antiretroviral Regimens as Maintenance Therapy in Individuals With Suppressed HIV-1 RNA: A Cohort Study. Open Forum Infect Dis 2018 Jun;5(6):1–8.
- [25] Baldin G, Ciccullo A, Borghetti A, Di Giambenedetto S. Virological efficacy of dual therapy with lamivudine and dolutegravir in HIV-1-infected virologically suppressed patients: long-term data from clinical practice. J Antimicrob Chemother 2019;74(5):1461–3.
- [26] Campbell TB, Shulman NS, Johnson SC, Zolopa AR, Young RK, Bushman L, et al. Antiviral Activity of Lamivudine in Salvage Therapy for Multidrug-Resistant HIV-1 Infection. Clin Infect Dis 2005;41(2):236–42.
- [27] Castagna A, Danise A, Menzo S, Galli L, Gianotti N, Carini E, et al. Lamivudine monotherapy in HIV-1-infected patients harbouring a lamivudine-resistant virus: A randomized pilot study (E-184V study). Aids 2006;20(6):795–803.
- [28] Wainberg MA. The impact of the M184V substitution on drug resistance and viral fitness. Expert Rev Anti Infect Ther 2004;2(1):147–51.
- [29] Oliveira M, Ibanescu RI, Pham HT, Brenner B, Mesplede T, Wainberg MA. The M184V and K65R nucleoside resistance mutations in HIV-1 prevent the emergence of resistance mutations against dolutegravir. AIDS 2016;30(15):2267–73.
- [30] Gagliardini R, Ciccullo A, Borghetti A, Maggiolo F, Bartolozzi D, Borghi V, et al. Impact of the M184V Resistance Mutation on Virological Efficacy and Durability of Lamivudine-Based Dual Antiretroviral Regimens as Maintenance Therapy in Individuals With Suppressed HIV-1 RNA: A Cohort Study. Open forum Infect Dis 2018 Jun;5(6):ofy113.

## Long-term efficacy of dolutegravir plus lamivudine for maintenance of HIV viral suppression in adults with and without historical resistance to lamivudine: Week 96 results of ART-PRO pilot study

David Rial-Crestelo<sup>1†</sup>, Rosa de Miguel<sup>2†</sup>, Rocío Montejano<sup>2</sup>, Lourdes Dominguez-Dominguez<sup>1</sup>, Paula Aranguren-Rivas<sup>1</sup>, Andrés Esteban-Cantos<sup>2</sup>, Otilia Bisbal<sup>1</sup>, Mireia Santacreu-Guerrero<sup>1</sup>, Mónica García-Alvarez<sup>1</sup>, Belén Alejos<sup>3</sup>, Asunción Hernando<sup>4</sup>, Laura Bermejo-Plaza<sup>1</sup>, Julen Cadiñanos<sup>2</sup>, Mario Mayoral<sup>2</sup>, Juan Miguel Castro<sup>2</sup>, Victoria Moreno<sup>2</sup>, Luz Martín-Carbonero<sup>2</sup>, Rafael Delgado<sup>1</sup>, Rafael Rubio<sup>1</sup>, Federico Pulido<sup>1\*</sup> ‡ and José Ramón Arribas<sup>2‡</sup> on behalf of ART-PRO, P116/00837-P116/00678 study groups

<sup>1</sup>Hospital Universitario, 12 de Octubre - Imas12, Av. de Córdoba, s/n, 28041 Madrid, Spain; <sup>2</sup>Hospital Universitario La Paz - IdiPAZ, Paseo de la Castellana 261 28046, Madrid, Spain; <sup>3</sup>Instituto de Salud Carlos III, Av. de Monforte de Lemos, 5, 28029 Madrid, Spain; <sup>4</sup>Universidad Europea de Madrid- Imas12, Calle Tajo, s/n, 28670 Villaviciosa de Odón, Madrid, Spain

\*Corresponding author. E-mail: federico.pulido@salud.madrid.org

†Contributed equally.

‡Co-senior authors.

§Members are listed in the Acknowledgements section.

Received 15 July 2020; accepted 22 October 2020

**Background:** In the ART-PRO pilot trial there were no virological failures through 48 weeks of treatment with dolutegravir plus lamivudine in suppressed individuals with and without archived lamivudine resistance-associated mutations (RAMs) detected through next-generation sequencing (NGS) but without evidence of lamivudine RAMs in baseline proviral DNA population sequencing.

**Objectives:** To present 96 week results from ART-PRO.

**Methods:** Open-label, single-arm pilot trial. At baseline, all participants switched to dolutegravir plus lamivudine. Participants were excluded if proviral DNA population genotyping detected lamivudine RAMs. To detect resistance minority variants, proviral DNA NGS was retrospectively performed from baseline samples. For this analysis the efficacy endpoint was the proportion of participants with <50 HIV-1 RNA copies/mL at week 96. Safety and tolerability outcomes were incidence of adverse events and treatment discontinuations.

**Results:** Forty-one participants were included, 21 with lamivudine RAMs in historical plasma RNA genotypes. Baseline proviral DNA NGS detected lamivudine RAMs (M184V/I and/or K65R/E/N) above a 5% threshold in 71.4% (15/21) and 15% (3/20) of participants with and without history of lamivudine resistance, respectively. At 96 weeks, 90.2% of participants achieved the efficacy endpoint. Between week 48 and 96 there was one discontinuation due to consent withdrawal and no discontinuations related to adverse events. Two participants had a transient viral rebound, both re-suppressed on dolutegravir plus lamivudine. Through week 96, there were no virological failures.

**Conclusions:** In this pilot trial, dolutegravir plus lamivudine maintained virological suppression at 96 weeks despite historical lamivudine resistance and persisting archived minority lamivudine RAMs.

### Introduction

In recent years, research on ART has strived to find less-toxic regimens while maintaining virological efficacy. One large randomized study showed that dolutegravir and lamivudine was non-inferior in efficacy to triple-drug regimens for maintenance of virological

suppression in participants without prior history of any major nucleoside reverse transcriptase inhibitor (NRTI) or integrase strand transfer inhibitor (INSTI) resistance-associated mutations (RAMs).<sup>1</sup> However, data from prospective or randomized clinical trials for this combination in persons with past virological failures (VF) or



resistance are currently scarce. Notwithstanding, data from large retrospective cohorts show a potential role for this regimen even in the presence of historical lamivudine resistance.<sup>2</sup>

Our pilot study ART-PRO showed that there were no virological failures after 48 weeks of treatment with dolutegravir plus lamivudine in suppressed individuals with and without archived lamivudine RAMs detected through next-generation sequencing (NGS) but without evidence of lamivudine RAMs in baseline proviral DNA population sequencing. In our study, archived minority variants of lamivudine RAMs had no impact on the virological efficacy of this combination.<sup>3</sup> Since maintenance of virological suppression with dolutegravir and lamivudine in patients with prior history of lamivudine RAMs is a novel strategy with limited supportive data it is important to evaluate its long-term efficacy.

This report presents follow-up results through week 96 of the ongoing ART-PRO pilot study.

## Patients and methods

The design and complete description of study procedures of this pilot-proof of concept, single-arm, Phase IIa, open label clinical trial are described elsewhere.<sup>3</sup>

Briefly, participants had to meet the following criteria: (a) HIV-1 infected  $\geq 18$  years; (b) stable ART  $\geq 3$  months; (c) CD4 count  $>350$  cells/mm<sup>3</sup>; (d) HIV-1 RNA  $<50$  copies/mL for 1 year (allowing for one blip in the 3 months before study entry); (e) naive to INSTIs; and (f) history of treatment with lamivudine or emtricitabine. Exclusion criteria were: (a) detectable lamivudine RAMs (M184V/I or K65R) in proviral DNA Sanger sequencing at screening; (b) pregnancy, lactating or fertile women unwilling to commit to birth control; and (c) hepatitis B infection.

On day 1, participants switched to dolutegravir (50 mg) plus lamivudine (300 mg) orally once daily. Although all participants received the same intervention, there were two study groups based on historical RNA genotypes: one with lamivudine RAMs and a second group without lamivudine RAMs in their historical RNA genotype.

Baseline proviral DNA was sequenced in peripheral blood (Sanger sequencing using Big Dye Terminator (Applied Biosystem), and Stanford HIVDB algorithm to interpret resistance mutations) and from PBMCs for NGS (Illumina in a Miseq instrument (Illumina, San Diego, CA, USA). Hypermutation analysis in those NGS samples with lamivudine RAMs was performed using Hypermut 2.0 software (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/hypermut/hypermut.html>).

If any participant had HIV-1 RNA  $>200$  copies/mL a plasma genotyping test on the integrase and reverse transcriptase (ViroSeq HIV-1 Genotyping System, Abbott Molecular, Spain) was performed. Transient viral rebounds were defined as a viral load  $>50$  HIV-1 RNA copies/mL followed by a re-test within a 2 week window confirming that the viral load decreased to  $<50$  HIV-1 RNA copies/mL.

For the 96 weeks analysis we evaluated the proportion of participants with HIV RNA  $<50$  copies/mL at 96 weeks, in the intention-to-treat-exposed (ITT-e) population using the US FDA snapshot algorithm. Secondary efficacy analysis included the per-protocol population. Safety and tolerability outcomes were incidence of adverse events (AEs) and treatment discontinuation due to toxicity or intolerance.

## Ethics

ART-PRO is registered in ClinicalTrials.gov (NCT03539224). The protocol was approved by the Ethics Committee, is in accordance with applicable laws and the Declaration of Helsinki. All participants provided written informed consent. On 1 October 2018 the ART-PRO protocol was amended to expand follow-up to 144 weeks.

## Statistical analysis

Owing to the proof-of-concept nature of this study, no formal sample size was calculated. We aimed to include a total of 40 participants: 20 with history of lamivudine RAMs and 20 without. The ITT-e population included all participants receiving at least one dose of dolutegravir plus lamivudine. Per protocol analysis excluded those with any deviation from the eligibility criteria.

Descriptive analysis was performed using frequency tables and median and IQR. Differences according to historical mutation group were assessed with the Kruskal-Wallis test (continuous variables) and chi-squared test (categorical variables). Adjusted differences were assessed with a multi-variable linear regression. We assessed the association between categorical variables using the  $\chi^2$  or Fisher exact test when appropriate. We compared the frequency of resistance mutations (NGS versus proviral bulk genotyping), and analysed the percentage of participants with M184V/I and/or K65R/E/N detected by NGS at 1%, 5%, 10% and 20% thresholds at study entry.

All analyses were performed using Stata software (version 15.0; Stata Corporation, College Station, Texas, USA).

## Results

Forty-one participants were included: 21 had a history of resistance to lamivudine and 20 did not, based on historical RNA genotype. Detailed baseline demographic characteristics at study entry have been described elsewhere.<sup>3</sup> Patients with previous lamivudine resistance had a non-statistically significant higher duration of HIV viral suppression, had a lower CD4+ cells nadir, received a higher number of prior treatment regimens, and were less likely to receive a lamivudine or emtricitabine-based regimen prior to the study entry (Table S1, which is available as Supplementary data at JAC Online).

NGS analysis from baseline samples showed that 7/21 participants with historical lamivudine resistance had the M184V/I and/or K65R/E/N mutations detected with a frequency over the 20% threshold, 15/21 when considering over a 5% threshold and almost all (20/21) when the 1% threshold was applied. Among participants without historical lamivudine resistance, none presented the K65R/E/N mutation but 1/20, 3/20 and 7/20 had the M184I mutation with over a 20%, 5% or 1% threshold, respectively. Hypermutation analysis indicated that 16/27 samples harboured reverse transcriptase defective viral genomes due to APOBEC-induced mutations. After removal of hypermutated reads, lamivudine RAMs remained present in 22/27 of the initial samples.

At 96 weeks, the proportion of participants with VL  $<50$  copies/mL was 90.2% (37/41; 95% CI 76.9–97.3), ITT-e analysis, FDA snapshot. The efficacy in the group with historical lamivudine resistance was 85.7% (18/21; 95% CI 63.7–97.0) and 95.0% (19/20; 95% CI 75.1–99.9) in the group without history of lamivudine resistance (ITT-e analysis, FDA Snapshot; *P* value for between groups comparison: 0.61, Fisher's exact test). All participants who reached week 96 (37/41) had a viral load (VL)  $<50$  copies/mL (Table 1).

During the first 48 weeks, three participants prematurely discontinued the study: two protocol violations of two participants with history of lamivudine resistance in whom proviral DNA population sequencing revealed persisting M184V mutation (week 12) and one withdrawal due to an AE (week 8, insomnia). From week 48 to week 96 there was one additional participant who declined to continue the study. All these participants had an HIV RNA  $<50$  copies/mL at the time of discontinuing the study. Per-protocol



**Table 1.** US FDA algorithm snapshot at week 96, intention to treat-exposed (ITT-e) analysis population (n = 41)

Characteristic	All participants (n = 41)	Historical resistance to lamivudine (n = 21)	No historical resistance to lamivudine (n = 20)	P value
HIV-1 RNA $\leq 50$ copies/mL	37 (90.2)	18 (85.7)	19 (95)	0.61
HIV-1 RNA $\geq 50$ copies/mL	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1
HIV-1 RNA $\geq 50$ copies/mL in W48 window	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Discontinuation of study drug due to lack of efficacy	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
Discontinuation of study drug due to other reasons and last available HIV-1 RNA $\geq 50$ copies/mL	0 (0)	0 (0)	0 (0)	
No virological data at W96	4 (9.8)	3 (14.3)	1 (5)	0.61
Discontinuation study drug due to AE	1 (2.4)	1 (4.8)	0 (0)	
Discontinuation of study drug due to other reasons and last available HIV-1 RNA $< 50$ copies/mL	3 (7.3)	2 (9.5)	1 (5)	

Values shown are n (%). AE, adverse event.

**Table 2.** Summary of treatment-related adverse events (AEs) that occurred between baseline and week 48 and between weeks 48 and 96, of the ART-PRO study

Adverse events	Baseline to Week 48 (n = 41)		Week 48 to Week 96 (n = 38)	
	Patients	AEs	Patients	AEs
Summary of adverse events				
Any adverse event	18 (43.9)	28	2 (5.2)	2
Grade 3 or 4 adverse event	1 (2.4)	1	0 (0)	0
Serious adverse event	0 (0)	0	0 (0)	0
Discontinuation due to adverse event	1 (2.4)	1	0 (0)	0
Death	0 (0)	0	0 (0)	0
Adverse events occurring in at least 5% of patients				
Digestive	6 (14.6)	7	1 (2.6)	1
Neuropsychiatric	8 (19.5)	8	0 (0)	0
Musculoskeletal	3 (7.3)	3	0 (0)	0

efficacy analysis at 96 weeks shows an overall proportion of participants with VL  $< 50$  copies/mL of 94.9% (37/39; 95% CI 82.7%–99.4%); 94.7% in the group with historical lamivudine RAMs (18/19; 95% CI 74.0%–99.9%) and 95% in the group without historical lamivudine RAMs (19/20; 95% CI 75.1%–99.9%; *P* value for between groups comparison: 1, Fisher's exact test).

After week 48, two participants had transient low-level viral rebounds, both re-suppressed on dolutegravir plus lamivudine. Overall, from baseline, 12 participants (6 from the group with history of lamivudine resistance) had a total of 14 transient viral rebounds. In all cases, virological suppression was recovered maintaining the same regimen, without re-emergence of lamivudine RAMs or newly acquired integrase mutations. Through week 96, there were no cases of withdrawal due to VF and no emergence of resistance mutations.

None of the adverse effects observed after week 48 led to discontinuation (Table 2). From baseline, there were 30

treatment-related AEs, only one leading to treatment discontinuation (insomnia, week 8). There were no drug-related serious AEs. The only laboratory grade 3 drug-related AE (hypercholesterolaemia) occurred in one participant in the group with historical lamivudine resistance.

## Discussion

Our pilot trial results show durability of the efficacy of dolutegravir plus lamivudine to maintain virological suppression in persons with archived lamivudine RAMs detected in DNA by NGS but not by population sequencing. At 96 weeks, there were no cases of virological failure, despite 51% of participants having past RNA genotypes with lamivudine RAMs and 71.4% having baseline archived minority variants in proviral DNA NGS.

There is currently insufficient data regarding the potential efficacy of dolutegravir plus lamivudine in the context of past

lamivudine resistance. Retrospective cohort studies have shown that detecting the M184V mutation in historical plasma genotype was not predictive of virological failure when switching to lamivudine-based dual therapies.<sup>2,4,5</sup> A prospective cohort with a limited number of persons with past lamivudine RAMs that were switched to lamivudine plus dolutegravir also showed sustained viral suppression after 4 years of treatment.<sup>6–8</sup>

Pooled data from dolutegravir monotherapy studies for maintenance treatment revealed a proportion of virological failure of 8.9% at 48 weeks.<sup>9</sup> In dolutegravir monotherapy studies there were virological failures that occurred mostly after 24 weeks of follow up.<sup>10,11</sup> This may lead some to belief that in persons with a past history of lamivudine RAMs treated with dolutegravir and lamivudine, virological failures could also appear in a deferred manner. Our 96 week results do not support this concept. The absence of any case of virological failure in our study after a 96-week follow up shows the long-term efficacy of this combination in this context and suggests that lamivudine might add significant antiviral activity to dolutegravir despite the presence of archived lamivudine RAMs. One explanation could be that low abundance of M184V/I mutations may not have the potential to hamper the regimen but might contribute to the success of dolutegravir plus lamivudine by maintaining a diminished viral fitness and preventing the emergence of resistance mutations against dolutegravir.<sup>12,13</sup> Indeed, earlier studies demonstrated a lower viral rebound in persons harbouring the M184V mutation who received lamivudine, showing residual antiviral efficacy of lamivudine despite the presence of resistance mutations.<sup>14</sup>

In our study, we justify using baseline proviral DNA population sequencing to provide some assurance that past lamivudine RAMs are not persisting abundantly, increasing the probability of response to dolutegravir plus lamivudine. The hypermutation analysis showed that 18.5% of mutations detected through NGS were from hypermutated viral sequences, but this does not completely exclude that the archived resistance mutations may be related to defective viral genomes in other ways different to hypermutation, such as large internal deletions.<sup>15</sup>

Although we present long-term follow up data, we are aware that the main limitation of this study is the limited sample size, owing to its proof-of-concept design. The non-randomized design and small number of participants also prevents us from inferring if there were any particular characteristics of the subjects (e.g. duration of viral suppression) that may have contributed to the favourable outcomes of this pilot study. Therefore, our results should be interpreted with caution and this approach should not be used outside clinical trials. Another limitation is that the presence of minority variants carrying thymidine analogue mutations has not been assessed, so their potential effect on lamivudine resistance could not be analysed. However, we believe that there is a need to perform further research on this treatment strategy, more so now that lamivudine plus dolutegravir is a recommended regimen in guidelines,<sup>16,17</sup> and clinicians may also be reluctant to switch to lamivudine plus dolutegravir if they do not have historical genotype information.

In summary, the 96 week results of ART-PRO study further support the hypothesis that when historical lamivudine RAMs are not detected in proviral DNA by population sequencing a switch to dolutegravir plus lamivudine could be safe and effective for maintenance of virological suppression. Archived minority lamivudine-

resistant variants did not seem to affect the efficacy of the regimen. A 144 week extension of our study is currently ongoing, but our results call for a fully powered trial to adequately validate our results.

## Acknowledgements

The authors thank the study participants; their families and caregivers; investigators and site staff who participated in the study.

## Members of the ART-PRO, PI16/00837-PI16/00678 study group

Hospital Universitario La Paz - IdiPAZ, Madrid, Spain: J.R. Arribas, R. De Miguel Buckley, R. Montejano, A. Esteban-Cantos, N. Stella-Ascariz, J. Cadiñanos, M. Mayoral, J.M. Castro, V. Moreno, L. Martin-Carbonero, E. Valencia, I. Bernardino, C. Busca, R. Micán, I. Pérez-Valero, J. González, M.L. Montes, J. Rodríguez Centeno.

Hospital Universitario 12 de Octubre - Imas12, Madrid, Spain: F. Pulido, D. Rial-Crestelo, L. Domínguez-Domínguez, P. Aranguren-Rivas, O. Bisbal, L. Bermejo Plaza, M. García-Alvarez, M. Santacreu-Guerrero, M. de Lagarde, M. Matarranz, J. Luzckoviak, A. Sotillo, R. Delgado, R. Rubio.

Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain: B. Alejos

Universidad Europea de Madrid- Imas12, Madrid, Spain: A. Hernando

## Funding

This work was supported by Fondo de Investigaciones Sanitarias, Instituto de Salud Carlos III PI16/00837 - PI16/00678. R.D.M. is supported by a Rio Hortega fellowship from Fondo de Investigaciones Sanitarias (CM17/00064). M.G.A. is supported by 'Instituto de Salud Carlos III' (JR15/00031). A.E. is supported by a PFIS fellowship from Fondo de Investigaciones Sanitarias (FI17/00194). J.C. is supported by a Rio Hortega fellowship from Fondo de Investigaciones Sanitarias (CM19/00059). The funding source had no role in designing, collecting, interpreting or writing of the report. All authors had access to the data and final manuscript and vouch for the veracity of the submitted publication. The joint senior authors are responsible for the decision to submit the study for publication.

## Transparency declarations

R.D.M. reports grants from Fondo de Investigaciones Sanitarias, during the conduct of the study; personal fees (speaker fee) and non-financial support from Janssen, non-financial support and personal fees (speaker fee) from Viiv, non-financial support and personal fees (speaker fee) from Gilead, outside the submitted work. D.R. reports personal fees from Gilead Sciences Inc, non-financial support and personal fees from Janssen Cilag, grants and personal fees from Viiv Healthcare, outside the submitted work. L.D. reports payment for lectures from Gilead and Janssen, and financial support for expert courses and congress from Merck Sharp and Dome, Gilead and Abbvie, outside the submitted work. R.M. reports grants from Juan Rodes 18/00039, during the conduct of the study; personal fees from Viiv Health care, personal fees from Janssen Cilag, outside the submitted work. O.B. reports non-financial support from GILEAD, personal fees from GILEAD, personal fees from Viiv, grants from Viiv, non-financial support from MSD, grants from Viiv, outside the submitted work. A.E. reports grants from Instituto de Salud Carlos III, during the conduct of the study. P.A. reports personal fees from Viiv Healthcare, outside the submitted work. M.G. reports grants and personal fees from Hologic, grants from Roche diagnostics, grants from Beckman coulter, personal fees from Viiv Health Care, grants from

Instituto de Salud Carlos III, outside the submitted work. J.C. reports grants from Instituto de Salud Carlos III - Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades, outside the submitted work. M.S. reports personal fees from Janssen Cilag, personal fees from Viiv Healthcare, outside the submitted work. V.M. reports personal fees from Viiv Health Care, personal fees from Gilead Sciences, personal fees and non-financial support from Janssen Cilag, personal fees from Merck Sharp & Dohme, outside the submitted work. L.M. reports personal fees from Gilead, personal fees from Viiv, personal fees from MSD, personal fees from Janssen, outside the submitted work. R.R. reports personal fees from Viiv Health Care, personal fees from Gilead Sciences, personal fees from Janssen Cilag, personal fees from Merck Sharp & Dohme, outside the submitted work. R.D. has received conference fees from Viiv. F.P. reports grants from Instituto de Salud Carlos III, during the conduct of the study; personal fees from Gilead Sciences, personal fees from Janssen, personal fees from MSD, personal fees from Viiv Healthcare, outside the submitted work. J.R.A. reports grants from Instituto de Salud Carlos III, during the conduct of the study; grants and personal fees from Viiv, Gilead, personal fees from Janssen, MSD, Alex, TEVA, outside the submitted work. The remaining authors have none to declare.

### Author contributions

J.R.A., F.P., L.D., R.M., O.B., A.H., and R.D. participated in the conceptualization and design of the study. R.D.M., D.R., L.D., R.M., O.B., J.C., V.M., L.M., R.R., F.P. and J.R.A. were study investigators and participated in the conduct of the study, including the recruitment and follow-up of participants. A.E., P.A., M.G., and R.D. performed DNA sequencing and resistance analysis. L.B., A.H., M.S., M.M. and J.M.C. curated data, project administration, and coordination. B.A., R.D.M., D.R., L.D. and R.M. were involved with formal data analysis. J.R.A. and F.P. were responsible for funding acquisition and supervision of all the processes of the trial. All authors participated in the drafting and review of the manuscript.

### Supplementary data

Table S1 is available as Supplementary data at JAC Online.

### References

1. Van Wyk J, Ajana F, Bisshop F *et al.* Switching to DTG/3TC fixed-dose combination (FDC) is non-inferior to continuing a TAF-based regimen (TBR) in maintaining virologic suppression through 96 weeks (TANGO study). HIV Drug Therapy Glasgow Congress, Glasgow, Scotland, 5-8 October 2020. Abstract O441.
2. Galizzi N, Poli A, Galli L *et al.* Retrospective study on the outcomes of two-drugs regimens based on dolutegravir plus one reverse transcriptase inhibitor in virologically suppressed, HIV-Infected Patients. *Int J Antimicrob Agents* 2020; **55**:105893.
3. De Miguel R, Rial-Crestelo D, Dominguez-Dominguez L *et al.* Dolutegravir plus lamivudine for maintenance of HIV viral suppression in adults with and

without historical resistance to lamivudine: 48-week results of a non-randomized, pilot clinical trial (ART-PRO). *EBioMedicine* 2020; **55**:102779.

4. Gagliardini R, Ciccullo A, Borghetti A *et al.* Impact of the M184V resistance mutation on virological efficacy and durability of lamivudine-based dual antiretroviral regimens as maintenance therapy in individuals with suppressed HIV-1 RNA: a cohort study. *Open Forum Infect Dis* 2018; **5**:1-8.
5. Baldin G, Ciccullo A, Borghetti A *et al.* Virological efficacy of dual therapy with lamivudine and dolutegravir in HIV-1-infected virologically suppressed patients: long-term data from clinical practice. *J Antimicrob Chemother* 2019; **74**:1461-3.
6. Charpentier C, Montes B, Perrier M *et al.* HIV-1 DNA ultra-deep sequencing analysis at initiation of the dual therapy dolutegravir lamivudine in the maintenance DOLULAM pilot study. *J Antimicrob Chemother* 2017; **72**:2831-6.
7. Reynes J, Meftah N, Tuailon E *et al.* Dual regimen with dolutegravir and lamivudine maintains virologic suppression even in heavily treatment experienced HIV-infected patients: 96 weeks results from maintenance DOLULAM study. *Ninth IAS Conference on HIV Science, 2017, Paris, France*. Abstract MOPEB0322.
8. Reynes J, Montes B, Tuailon E *et al.* Virological efficacy and tolerability of dual therapy maintenance with Dolutegravir plus Lamivudine in heavily treatment experienced HIV-infected patients: four years data from DOLULAM study. *Twenty third Conference of International AIDS Society, 2020 (Virtual)*. Abstract PEB0241.
9. Wandeler G, Buzzi M, Anderegg N *et al.* Virologic failure and HIV drug resistance on simplified, dolutegravir-based maintenance therapy: Systematic review and meta-analysis. *F1000Res* 2018; **7**:1359.
10. Hocqueloux L, Raffi F, Prazuck T *et al.* Dolutegravir monotherapy versus Dolutegravir/Abacavir/Lamivudine for virologically suppressed people living with chronic human immunodeficiency virus infection: the randomized Noninferiority MONotherapy of TivCAY trial. *Clin Infect Dis* 2019; **69**:1498-505.
11. Wijting I, Rokx C, Boucher C *et al.* Dolutegravir as maintenance monotherapy for HIV (DOMONO): a phase 2, randomised non-inferiority trial. *Lancet HIV* 2017; **4**:e547-e554.
12. Oliveira M, Ibanescu RI, Pham HT *et al.* The M184I/V and K65R nucleoside resistance mutations in HIV-1 prevent the emergence of resistance mutations against dolutegravir. 2016; **30**:2267-73.
13. Wainberg MA. The impact of the M184V substitution on drug resistance and viral fitness. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2004; **2**:147-51.
14. Campbell TB, Shulman NS, Johnson SC *et al.* Antiviral activity of lamivudine in salvage therapy for multidrug-resistant HIV-1 infection. *Clin Infect Dis* 2005; **41**:236-42.
15. Ho YC, Shan L, Hosmane NN *et al.* Replication-competent noninduced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure. *Cell* 2013; **155**:540.
16. EACS Guidelines version 10.0, 2019. European AIDS Clinical Society. [https://www.eacsociety.org/files/guidelines-10.0\\_final\\_2\\_2.pdf](https://www.eacsociety.org/files/guidelines-10.0_final_2_2.pdf).
17. Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, Department of Health and Human Services. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents Living with HIV. 2019. <https://clinicalinfo.hiv.gov/sites/default/files/guidelines/documents/AdultandAdolescentGL.pdf>.